

UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária



Estratégias nutricionais na modulação da bioidrogenação
ruminal com vista à melhoria do perfil de ácidos gordos da
carne de ruminantes

Maria Alexandra Sobral Pessoa de Oliveira

ORIENTADOR: Professor Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Tese especialmente elaborada para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias
na Especialidade de Produção Animal

2017

UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária



**Estratégias nutricionais na modulação da bioidrogenação
ruminal com vista à melhoria do perfil de ácidos gordos da
carne de ruminantes**

Maria Alexandra Sobral Pessoa de Oliveira

ORIENTADOR: Professor Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Tese especialmente elaborada para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias
na Especialidade de Produção Animal

Júri:

Presidente: Professor Doutor Rui Manuel de Vasconcelos e Horta Caldeira

Vogais:

- Professor Doutor José António Mestre Prates – Professor Catedrático da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa – Relator.
- Professor Doutor Manuel Cancela D’Abreu – Professor Associado com Agregação da Universidade de Évora – Relator.
- Professor Doutor José Pedro da Costa Cardoso de Lemos – Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Professor Doutor Rui José Branquinho de Bessa – Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa – Orientador.
- Professora Doutora Eliana Alexandra de Sousa Jerónimo Alves – Investigadora Principal do Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo – CEBAL.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese, todo o trabalho que implicou,

Aos meus filhos, João e Tomás

Ao pai deles, o meu Guilhas

Aos meus pais, Nené e Cilita

Sem vocês, não teria conseguido.

Obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

Muitas foram as pessoas com quem pude contar ao longo destes quase 7 anos. Pela sua contribuição para a realização desta tese gostaria de manifestar o meu agradecimento:

À Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) da Universidade de Lisboa, nomeadamente, ao Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA), por me ter acolhido tão bem desde o primeiro momento, e por todos os meios humanos e materiais que me foram disponibilizados, fundamentais para a boa execução do trabalho que originou esta tese. Gostaria de deixar o meu especial agradecimento ao Professor Doutor Carlos Fontes, o meu primeiro contacto com o CIISA.

Ao Professor Doutor Rui José Branquinho de Bessa agradeço, de modo muito especial, por me ter aceite como sua doutoranda. Pela orientação técnico-científica do presente trabalho expresse o meu sincero reconhecimento pelo empenho sempre demonstrado em reunir todas as condições para a sua realização. O seu papel foi fundamental na melhoria dos artigos científicos e da tese e pela ajuda preciosa no tratamento estatístico dos resultados. Agradeço ainda o seu grande profissionalismo, conhecimentos científicos que me transmitiu, sapiência, dedicação, incentivo, disponibilidade no meio dos seus muitos afazeres, amizade e paciência que sempre demonstrou.

À Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção e Saúde Animal – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (UEISPSA–INIAV), e de modo muito especial ao Doutor José Santos-Silva, por me ter recebido na sua “casa” e pelo empenho sempre demonstrado em reunir todas as condições, materiais e humanas, para a realização do abate dos animais, pelas sugestões e conselhos ao longo do trabalho e durante a leitura atenta dos artigos científicos publicados no âmbito deste trabalho.

À Escola Superior Agrária de Coimbra – Instituto Politécnico de Coimbra (ESAC–IPC), instituição onde trabalho e que me proporcionou a dispensa da atividade letiva possível para que pudesse realizar o trabalho que deu origem à presente tese e me disponibilizou recursos humanos e materiais indispensáveis à realização dos ensaios com borregos e grande parte das análises laboratoriais.

À Doutora Susana Alves pela preciosa ajuda durante o abate dos animais, na análise do perfil de AG das amostras e na interpretação dos respetivos cromatogramas, pela amizade, paciência, compreensão, prontidão e simpatia que sempre me dispensou. Agradeço também

pela atenção e pelas sugestões durante a leitura dos artigos científicos publicados no âmbito deste trabalho.

À Paula Santos, do UEISPSA-INIAV, pelo seu precioso trabalho durante o abate dos borregos, dissecação das carcaças e na determinação dos parâmetros de qualidade das carcaças e da carne. Agradeço ainda pela amizade, cuidado, paciência, prontidão e simpatia sempre demonstrada. De igual modo, agradeço ao Sr. David e ao Sr. Pedro pelo seu trabalho durante o abate dos borregos.

Ao Sr. José Baptista, UEISPSA-INIAV, pela sua simpatia e disponibilidade e pela amabilidade em realizar as determinações do teor de amido nas amostras de alimentos utilizadas nos ensaios de alimentação realizados.

À Professora Doutora Luísa Falcão, do Instituto Superior de Agronomia – Universidade de Lisboa, por ter colocado à minha disposição os meios necessários para que pudesse realizar a granulação dos alimentos compostos utilizados no segundo ensaio de alimentação de borregos.

Às minhas estagiárias da ESAC-IPC, Sónia Ventura e Tânia Pato, alunas dos cursos de licenciatura em Engenharia Agro-Pecuária e em Agricultura Biológica, respetivamente, agradeço a disponibilidade e ajuda na realização do primeiro ensaio de alimentação e de grande parte das análises bromatológicas aos alimentos utilizados.

À Fundação Eugénio de Almeida, em particular ao Engenheiro Gonçalo Pinheiro, meu colega de curso, pela atenção dispensada na escolha dos borregos que permitiram a realização dos ensaios no âmbito deste trabalho.

Às Rações Zêzere, nomeadamente ao seu Diretor comercial, o Sr. Luís Guilherme, pela elaboração dos alimentos compostos utilizados nos ensaios de alimentação de borregos.

Ao Sr. Nuno Andrade da empresa Aguiar e Mello, Lda. pelo fornecimento da vermiculite utilizada no segundo ensaio de alimentação de borregos.

Ao Eng. Adérito Duarte da empresa Vetagri Alimentar, SA pelo fornecimento da bentonite utilizada no segundo ensaio de alimentação de borregos.

Ao Sr. Manuel Nunes, funcionário da ESAC-IPC, agradeço pela sua valiosa ajuda durante as pesagens semanais dos animais em ensaio, sempre simpático e bem-disposto.

À Alexandra Francisco, além de partilharmos o mesmo nome, partilhámos também o mesmo orientador. Obrigada pela ajuda no abate dos borregos do primeiro ensaio, pela amizade e simpatia ao longo destes anos.

À Sr^a. D. Conceição Barros da Provimi de Alverca, que não conheço pessoalmente, mas a quem não posso deixar de agradecer por me ter facilitado o acesso a um dos ingredientes (*corn gluten meal*) necessário à formulação das dietas do primeiro ensaio. Obrigada pela prontidão e simpatia com que desbloqueou a situação.

Aos meus colegas de trabalhos da ESAC-IPC, e para além disso meus amigos, Amélia Ramos e Pedro Pinto Bravo, pela amizade, companheirismo, nos bons e nos maus dias.

Aos meus pais, Nené e Cilita, aos meus filhos, João e Tomás, ao Guilherme, pai dos meus filhos, meu companheiro e amigo, aos meus sogros, cunhados e sobrinhas pelo apoio, carinho, força e incentivo sempre demonstrados e que foram imprescindíveis, fundamentais, para que pudesse realizar e concluir o presente trabalho.

Foi longo o caminho, mas cheguei ao fim.

A todos o meu sincero agradecimento.

Este trabalho teve o apoio da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) através da bolsa individual SFRH/PROTEC/67566/2010



Fundação para a Ciência e a Tecnologia

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, INOVAÇÃO E DO ENSINO SUPERIOR

RESUMO

Estratégias nutricionais na modulação da bioidrogenação ruminal com vista à melhoria do perfil de ácidos gordos da carne de ruminantes

Foram realizados dois ensaios com o objetivo de avaliar os efeitos de duas estratégias nutricionais no perfil lipídico da carne de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado suplementadas com óleo (60 g/kg de uma mistura de óleo de girassol e de linhaça, 1:2 v/v) i) diferindo no nível de amido e na degradabilidade ruminal do amido ou ii) incluindo argilas como adsorventes do suplemento lipídico. No primeiro ensaio, as diferenças no nível de amido foram conseguidas substituindo parcialmente os cereais por polpa de citrinos desidratada e as diferenças na degradabilidade ruminal do amido foram alcançadas alterando a proporção de milho e trigo nas dietas. As quatro dietas foram: MSMD (35% amido; 70% degradabilidade), MSHD (35% amido; 80% degradabilidade), HSMD (50% amido; 70% degradabilidade) e HSHD (50% amido; 80% degradabilidade). No segundo ensaio foram utilizadas quatro dietas: C (sem argilas), B (30 g/kg de Bentonite), V (30 g/kg de Vermiculite) e BV (15 g/kg de Bentonite + 15 g/kg de Vermiculite).

As estratégias nutricionais utilizadas em ambos os ensaios não tiveram efeito sobre o desempenho produtivo dos animais. No primeiro ensaio o aumento da degradabilidade ruminal do amido diminuiu (-10,3 N ou 1,05 kg) a FC da carne. No segundo ensaio a dieta BV resultou em carcaças com uma maior proporção de HPJ e músculo e com menos GPR e gordura dissecável total.

No primeiro ensaio, o teor em lípidos da carne não foi alterado pelas dietas. A redução do nível de amido diminuiu os *t*-MUFA na carne, em particular o *t*10-18:1. Os níveis de *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2 na carne permaneceram baixos e os de 18:3n-3 permaneceram altos (0,7, <0,3 e 1,74% do total de AG, respetivamente) e inalterados pelas dietas. Os parâmetros fermentativos do rúmen e o perfil de *i*-BCFAs sugerem que a redução do nível de amido terá resultado num aumento do número ou da atividade das bactérias fibrolíticas. Apesar disso, não foi observado qualquer efeito das dietas sobre a extensão ou a completude da BH.

No segundo ensaio, não foram observadas diferenças entre dietas nos AGV e nas contagens de protozoários do rúmen. A extensão da BH do 18:2n-6 ou 18:3n-3 permaneceu inalterada e o teor e o perfil em AG dos lípidos da carne foram bastante semelhantes entre tratamentos. A carne apresentou teores elevados em *t*10-18:1 e *t*10,*c*15-18:2 (≈11 e ≈2,0 g/100 g do total de AG, respetivamente), enquanto o *t*11-18:1 e o *c*9,*t*11-18:2 (≈0,9 e ≈0,2 g/100 g do total de AG, respetivamente) foram bastante baixos. Não foi observado qualquer efeito sobre o teor de 18:2n-6, 18:3n-3 e LC-PUFA da carne.

O enriquecimento da carne de borregos produzidos de forma intensiva com AG benéficos para a saúde suplementando as suas dietas com PUFA é limitado pelo *shift trans*-10 das vias de BH ruminal. Os resultados do presente trabalho sugerem que as estratégias para mitigar o *shift trans*-10 em borregos engordados intensivamente com dietas suplementadas com PUFA devem ser dirigidas para a redução da ingestão de amido e não tanto para a utilização de fontes de amido de baixa degradabilidade ruminal. A inclusão de argilas como adsorventes de óleos vegetais em dietas à base de alimentos concentrados foi ineficaz na proteção dos PUFA em relação à BH ruminal e na prevenção do *shift trans*-10.

Palavras-chave: carne de borrego; bioidrogenação; *shift trans*-10; amido; argilas.

ABSTRACT

Nutritional strategies in the modulation of ruminal biohydrogenation to improve the fatty acid profile of ruminant's meat

Two experiments were conducted to evaluate the effects of two nutritional strategies on meat FA profile in lambs fed intensively with high concentrate diets supplemented with oil (60 g/kg of added sunflower and linseed oil blend, 1:2 v/v) and i) differing in starch level and starch rumen degradability or ii) including clays as vegetable oil adsorbent. In the first trial, the dietary differences in starch level were achieved mainly by replacing cereals with dried citrus pulp and differences in rumen starch degradability were achieved by changing the proportions of corn and wheat. The four diets were MSMD (35% starch; 70% degradability), MSHD (35% starch; 80% degradability), HSMD (50% starch; 70% degradability) and HSHD (50% starch; 80% degradability). In the second trial, we used four diets: C (no clay), B (30 g/kg of Bentonite), V (30 g/kg of Vermiculite) and BV (15 g/kg of Bentonite plus 15 g/kg of Vermiculite).

The nutritional strategies used had no effect on animal performance. In the first trial, the high degradability diets decreased (-10,3 N or 1,05 kg) meat SF. In the second trial BV diet resulted in higher proportions of HPJ and muscle and lower KKCF and total dissectible carcass fat.

In the first trial, lipid content of meat was unaffected by diets. The reduction of starch level decreased *t*-MUFA, particularly *t*10-18:1. The *t*11-18:1 and *c*9,*t*11-18:2 remained low and the 18:3n-3 remained high (0,7, <0,3 and 1,74% of total FA, respectively) and unaffected by diets. Rumen fermentation parameters and i-BCFA suggest that starch reduction resulted in an increase in fibrolytic bacteria number or activity. Yet, no significant effect was observed in BH extent or completeness.

In the second trial, no differences among diets were observed on rumen VFA and protozoa counts. No effect was observed on 18:2n-6 or 18:3n-3 BH extent and meat total lipids and meat FA profile were very similar among treatments. Meat samples from animals from all diets presented high contents of *t*10-18:1 and *t*10,*c*15-18:2 (≈ 11 and ≈ 2.0 g/100 g of total FA, respectively), whereas *t*11-18:1 and *c*9,*t*11-18:2 (≈ 0.9 and ≈ 0.2 g/100 g of total FA, respectively) were quite low. No effect was observed in 18:2n-6, 18:3n-3 and LC-PUFA contents in meat.

Enrichment of intensively finished lamb with healthy FA using dietary PUFA supplementation is hampered by the *trans*-10 shifted BH pathways. The results from the present work suggest that strategies to mitigate the *trans*-10 shift in intensively finishing lambs supplemented with oils rich in PUFA should be directed to reducing dietary starch intake rather than to the use of starch sources with lower rumen degradability. The inclusion of clays as vegetable oil adsorbents in high concentrate based diets were ineffective to protect PUFA from rumen BH as well as to prevent the *trans*-10 shift.

Keywords: lamb meat; biohydrogenation; *trans*-10 shift; starch; clays.

LISTA de PUBLICAÇÕES

Esta tese baseou-se nos resultados publicados nos seguintes artigos científicos:

Oliveira, M. A., Alves, S. P., Santos-Silva, J., and Bessa, R. J. B. (2016). Effects of clays used as oil adsorbents in lamb diets on fatty acid composition of abomasal digesta and meat. *Animal Feed Science and Technology*, 213, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.01.006>

Oliveira, M. A., Alves, S. P., Santos-Silva, J., and Bessa, R. J. B. (2017). Effect of dietary starch level and its rumen degradability on lamb meat fatty acid composition. *Meat Science*, 123, 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.001>

Oliveira, M. A., Alves, S. P., Santos-Silva, J., and Bessa, R. J. B. Effect of dietary starch level and rumen degradability on digestive contents and rumen mixed bacteria fatty acid profile. Artigo em preparação.

.

ÍNDICE

| | |
|---|----------|
| DECLARAÇÃO | iii |
| DEDICATÓRIA | v |
| AGRADECIMENTOS | vii |
| RESUMO | xi |
| ABSTRACT | xii |
| LISTA de PUBLICAÇÕES | xiii |
| LISTA de FIGURAS | xix |
| LISTA de GRÁFICOS | xx |
| LISTA de TABELAS | xxi |
| LISTA de ANEXOS | xxiii |
| LISTA de ABREVIATURAS, SÍMBOLOS e UNIDADES | xxiv |
| CAPÍTULO 1 – Introdução geral e objetivos | 1 |
| 1.1 Introdução geral | 2 |
| 1.2 Objetivos | 7 |
| CAPÍTULO 2 – Revisão bibliográfica | 9 |
| 2.1 Considerações iniciais sobre lípidos e ácidos gordos | 10 |
| 2.1.1 Ácidos gordos e regras de nomenclatura | 10 |
| 2.1.2 Fontes de lípidos na alimentação de ruminantes | 13 |
| 2.2 Metabolismo dos lípidos no rúmen | 15 |
| 2.2.1 Lipólise ruminal | 15 |
| 2.2.2 Biohidrogenação ruminal | 17 |
| 2.2.2.1 Biohidrogenação ruminal do ácido oleico | 18 |
| 2.2.2.2 Biohidrogenação ruminal do ácido linoleico | 19 |
| 2.2.2.3 Biohidrogenação ruminal do ácido linolénico | 20 |
| 2.2.3 Hidroxilação ruminal de ácidos gordos | 21 |
| 2.2.4 Saponificação dos ácidos gordos no rúmen | 23 |
| 2.2.5 Síntese microbiana | 24 |
| 2.3 Modulação da biohidrogenação ruminal | 25 |
| 2.3.1 Objetivos da modulação da biohidrogenação ruminal - inibir totalmente ou inibir parcialmente? | 26 |
| 2.3.2 Fatores que afetam a extensão da biohidrogenação ruminal | 27 |
| 2.3.3 Fatores que afetam a distribuição dos intermediários da biohidrogenação ruminal | 32 |
| 2.3.3.1 <i>Shift trans</i> -10 das vias de biohidrogenação ruminal | 37 |
| 2.4 Deposição de lípidos no tecido muscular | 41 |
| 2.4.1 Digestão e absorção intestinal dos lípidos | 41 |
| 2.4.2 Síntese de triacilgliceróis no tecido muscular | 43 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 2.4.2.1 | Síntese <i>de novo</i> de ácidos gordos | 43 |
| 2.4.2.2 | Elongação, dessaturação e esterificação dos ácidos gordos..... | 45 |
| 2.4.3 | Lípidos da carne | 47 |
| 2.5 | Lípidos e qualidade sensorial da carne de ruminantes..... | 49 |
| 2.5.1 | Cor, oxidação lipídica e tempo de prateleira da carne | 49 |
| 2.5.2 | <i>Flavour</i> e suculência da carne..... | 52 |
| 2.5.3 | Tenrura da carne | 53 |
| CAPÍTULO 3 – Efeito do nível de amido e da sua degradabilidade ruminal sobre o perfil de ácidos gordos dos conteúdos digestivos e das bactérias mistas do rúmen | | 55 |
| 3.1 | Introdução..... | 57 |
| 3.2 | Material e Métodos..... | 58 |
| 3.2.1 | Animais e dietas | 58 |
| 3.2.2 | Colheita de amostras..... | 59 |
| 3.2.3 | Métodos analíticos..... | 60 |
| 3.2.4 | Cálculos e análise estatística | 62 |
| 3.3 | Resultados..... | 64 |
| 3.3.1 | Parâmetros fermentativos do rúmen, lípidos totais e concentração em ácidos gordos do conteúdo ruminal | 64 |
| 3.3.2 | Lípidos totais e concentração em dimetilacetais e ácidos gordos das bactérias mistas ruminais | 67 |
| 3.3.3 | Lípidos totais e concentração em ácidos gordos do conteúdo abomasal..... | 69 |
| 3.3.4 | Bioidrogenação e estimativas da biomassa bacteriana ruminal | 72 |
| 3.4 | Discussão | 73 |
| 3.4.1 | Parâmetros fermentativos do rúmen e atividade microbiana | 73 |
| 3.4.2 | Teor e composição em ácidos gordos e DMA do conteúdo ruminal e das bactérias mistas ruminais | 74 |
| 3.4.3 | Bioidrogenação e perfil em ácidos gordos C18 da digesta abomasal | 77 |
| 3.5 | Conclusões..... | 79 |
| CAPÍTULO 4 – Efeito do nível de amido e da sua degradabilidade ruminal sobre a composição em ácidos gordos da carne de borrego..... | | 81 |
| 4.1 | Introdução..... | 83 |
| 4.2 | Material e Métodos..... | 84 |
| 4.2.1 | Animais e dietas | 84 |
| 4.2.2 | Colheita de amostras..... | 85 |
| 4.2.3 | Métodos analíticos..... | 86 |
| 4.2.4 | Análise estatística..... | 86 |
| 4.3 | Resultados..... | 87 |
| 4.3.1 | Desempenho produtivo, características de qualidade da carcaça e da carne..... | 87 |
| 4.3.2 | Lípidos totais e composição em ácidos gordos da carne..... | 88 |
| 4.4 | Discussão | 91 |
| 4.5 | Conclusões..... | 95 |

| | |
|---|------------|
| CAPÍTULO 5 – Efeito do uso de argilas como adsorventes de óleos vegetais na composição em ácidos gordos da digesta abomasal e da carne de borrego..... | 97 |
| 5.1 Introdução | 99 |
| 5.2 Material e métodos..... | 100 |
| 5.2.1 Animais e dietas | 100 |
| 5.2.2 Colheita de amostras | 101 |
| 5.2.3 Métodos analíticos | 103 |
| 5.2.4 Cálculos e análise estatística | 104 |
| 5.3 Resultados | 104 |
| 5.3.1 Ingestão de alimento, desempenho produtivo, características de qualidade da carcaça e da carne..... | 104 |
| 5.3.2 Fermentação ruminal e contagem de protozoários..... | 106 |
| 5.3.3 Composição em ácidos gordos da digesta abomasal | 106 |
| 5.3.4 Lípidos totais e composição em ácidos gordos da carne | 108 |
| 5.4 Discussão..... | 108 |
| 5.5 Conclusões..... | 112 |
| CAPÍTULO 6 – Discussão geral | 113 |
| 6.1 Efeitos das estratégias nutricionais na modulação do processo de BH ruminal | 114 |
| 6.2 Efeitos das estratégias nutricionais na melhoria do perfil de AG da carne de borrego..... | 119 |
| 6.3 Efeitos das estratégias nutricionais no desempenho produtivo e nas características de qualidade das carcaças e da carne | 123 |
| CAPÍTULO 7 – Conclusões finais e perspectivas futuras | 127 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 131 |
| ANEXOS..... | 153 |

LISTA de FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1 – Estratégias nutricionais utilizadas no presente trabalho com vista à melhoria do perfil lipídico da carne de borrego..... | 8 |
| Figura 2.1 – Classes de lípidos mais frequentemente presentes nos alimentos utilizados na alimentação de animais ruminantes..... | 10 |
| Figura 2.2 – Exemplificação da numeração dos carbonos do ácido linolénico de acordo com a nomenclatura química e nutricional..... | 11 |
| Figura 2.3 – Esquema genérico do metabolismo dos lípidos em animais ruminantes..... | 16 |
| Figura 2.4 – Esquema simplificado das principais vias de biohidrogenação ruminal do ácido oleico (c9-18:1). | 19 |
| Figura 2.5 – Esquema simplificado das principais vias de biohidrogenação ruminal do ácido linoleico (c9,c12-18:2). | 20 |
| Figura 2.6 – Esquema simplificado das principais vias de biohidrogenação ruminal do ácido linolénico (c9,c12,c15-18:3). | 21 |
| Figura 2.7 – Esquema simplificado dos objetivos da modulação da biohidrogenação ruminal com vista à melhoria do perfil lipídico dos produtos dos ruminantes..... | 27 |
| Figura 2.8 – Representação esquemática das principais vias que podem limitar a deposição de c9,t11-18:2 na carne de animais ruminantes com dietas à base de forragem e à base de alimento concentrado..... | 38 |
| Figura 2.9 – Esquema resumo das diferentes estratégias nutricionais que podem ser utilizadas na modulação da biohidrogenação ruminal. | 39 |
| Figura 2.10 – Origem dos lípidos presentes no duodeno de animais ruminantes..... | 41 |
| Figura 2.11 – Esquema simplificado da síntese <i>de novo</i> de ácidos gordo no tecido adiposo intramuscular..... | 44 |
| Figura 2.12 – Esquema simplificado da dessaturação e alongamento dos ácidos gordos das séries n-9, n-6 e n-3..... | 46 |

LISTA de GRÁFICOS

| | |
|---|-----|
| Gráfico 5.1 – Relação entre o teor de t10-18:1 e de $18:0$ (g/100 g do total de AG) na digesta abomasal de borregos alimentados com a dieta controlo (C, sem argila adicionada) ou com dietas com bentonite (B), vermiculite (V) ou com ambas (BV) as argilas como adsorventes de óleos vegetais. | 110 |
| Gráfico 6.1 – Relação observada no 1º ensaio entre o teor de t10-18:1 na digesta abomasal (em g/100 g do total de C18) e a completude da biohidrogenação ruminal (em g/100 g do total de PUFA). | 116 |
| Gráfico 6.2 – Relação observada no 2º ensaio entre o teor de t10-18:1 e de $18:0$ na digesta abomasal (em g/100 g do total de AG C18) e a completude da biohidrogenação ruminal (em g/100 g do total de AG C18). | 118 |

LISTA de TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1.1 – Consumo anual <i>per capita</i> de carne (kg/pessoa/ano) em diversas regiões do globo nos períodos de 1969-1971, 1989-1991, 2005-2007 e estimativas para 2030 e 2050. | 2 |
| Tabela 1.2 – Classificação das carnes vermelhas de acordo com as alegações nutricionais prevista na legislação europeia. | 4 |
| Tabela 1.3 – Recomendações nutricionais relativas à ingestão total de gorduras e de ácidos gordos em humanos adultos. | 5 |
| Tabela 2.1 – Principais ácidos gordos presentes nos alimentos e nos produtos dos ruminantes. | 12 |
| Tabela 2.2 – Teor em lípidos (g/kg de MS) e composição em ácidos gordos (g/100 g do total de ácidos gordos) de alguns alimentos e suplementos utilizados na alimentação de animais ruminantes. | 14 |
| Tabela 2.3 – Resumo dos intermediários formados durante a bioidrogenação ruminal do ácido oleico, ácido linoleico e ácido linolénico. | 22 |
| Tabela 3.1 – Ingredientes (g/kg de alimento), composição química (g/kg MS) e perfil de ácidos gordos (g/kg AG totais) dos alimentos compostos e do feno utilizados no ensaio de alimentação de borregos. | 59 |
| Tabela 3.2 – Parâmetros fermentativos do rúmen de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, médio vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. | 64 |
| Tabela 3.3 – Composição geral em ácidos gordos do conteúdo ruminal de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, médio vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. | 65 |
| Tabela 3.4 – Teor (g/100 g do total de AG) e composição (g/100 g do total de C18) em AG C18 do conteúdo ruminal de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. | 66 |
| Tabela 3.5 – Teor (mg/g de MS) e composição em ácidos gordos de bactérias mistas ruminais de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. | 68 |
| Tabela 3.6 – Teor (g/100 g de AG) e composição em ácidos gordos C18 (g/100 g de AG C18) de bactérias mistas ruminais de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. | 70 |
| Tabela 3.7 – Teor e composição em ácidos gordos da digesta abomasal de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. | 71 |
| Tabela 3.8 – Estimativas da densidade biomassa bacteriana ruminal (DBB) e da bioidrogenação ruminal em borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. | 72 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 4.1 – Ingestão, desempenho produtivo, características de qualidade das carcaças e da carne de borregos alimentados com dietas diferindo no nível de amido (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta) | 87 |
| Tabela 4.2 – Lípidos totais (mg/g de carne), teor (mg/g de MS) e composição em ácidos gordos (g/100 g de AG totais) da carne de borregos alimentados com dietas diferindo no nível de amido (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta) | 89 |
| Tabela 4.3 – Intermediários da bioidrogenação dos C18 (g/100 g AG totais) presentes na carne de borregos alimentados com dietas diferindo no nível de amido (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta) | 90 |
| Tabela 5.1 – Ingredientes (g/kg de alimento), composição química (g/kg MS) e composição em ácidos gordos (g/kg MS) dos alimentos compostos e da palha de trigo utilizados no ensaio de alimentação de borregos..... | 102 |
| Tabela 5.2 – Ingestão de alimento, produtividade animal, características de qualidade da carcaça e da carne de borregos alimentados com a dieta controlo (C, sem argila adicionada) ou com dietas contendo bentonite (B), vermiculite (V) ou ambas as argilas (BV) como adsorventes de óleos vegetais. | 105 |
| Tabela 5.3 – Composição em ácidos gordos da digesta abomasal de borregos alimentados com a dieta controlo (C, sem argila adicionada) ou com dietas com bentonite (B), vermiculite (V) ou com ambas (BV) as argilas como adsorventes de óleos vegetais..... | 107 |
| Tabela 5.4 – Médias dos lípidos totais (g/100 g de carne) e da composição em ácidos gordos (g/100 g do total de AG) da carne de borregos observados com as dietas (média \pm DP, n=40)..... | 109 |
| Tabela 6.1 – Contribuição de 100 g de carne proveniente dos borregos alimentados com as dietas utilizadas no 1º e no 2º ensaio para a Dose Diária Recomendada relativas à ingestão total de gorduras e de ácidos gordos em humanos adultos de acordo com as recomendações nutricionais da FAO ¹ | 120 |
| Tabela 6.2 – Custo com a alimentação e margem bruta parcial obtida com os borregos sujeitos às dietas utilizadas nos dois ensaios. | 123 |

LISTA de ANEXOS

| | |
|--|-----|
| Anexo 1 – Teor em lípidos e composição em AG de 100 g de carne proveniente dos borregos alimentados com as dietas utilizadas no 1º e no 2º ensaio. | 155 |
|--|-----|

LISTA de ABREVIATURAS, SÍMBOLOS e UNIDADES

| | |
|---------|---|
| % | Porcentagem; |
| %E | Porcentagem da ingestão diária de energia; |
| ↑ | Aumento; |
| ↓ | Diminuição; |
| € | Euro; |
| < | Menor do que; |
| = | Igual a; |
| =C-C= | Ligação dupla conjugada; ligações duplas separadas por uma ligação simples; |
| =C-C-C= | Ligação dupla não conjugada; ligações duplas separadas por um grupo metilénico; |
| > | Maior do que; |
| ± | Mais ou menos; |
| ≈ | Aproximadamente igual; |
| ≤ | Menor ou igual que; |
| ≥ | Maior ou igual que; |
| ® | Marca registada; |
| °C | Grau centígrado; |
| µg | Micrograma; |
| µL | Microlitro; |
| µm | Micrómetro; |
| 12:0 | Ácido láurico; |
| 14:0 | Ácido mirístico; |
| 16:0 | Ácido palmítico; |
| 18:0 | Ácido esteárico; |
| 18:1 | Ácidos octadecenóicos; |
| 18:2 | Ácidos octadecadienóicos; |
| 18:2n-6 | Ácido linoleico (c9,c12-18:2); |
| 18:3 | Ácidos octadecatrienóicos; |
| 18:3n-3 | Ácido linolénico (c9,c12,c15-18:3); |
| 19:0 | Ácido nonadecanóico; |
| 2:0 | Ácido acético; |
| 20:4n-6 | Ácido araquidónico; o mesmo que ARA; |
| 20:5n-3 | Ácido eicosapentaenóico; o mesmo que EPA; |
| 22:6n-3 | Ácido docosahexaenóico; o mesmo que DHA; |
| 3:0 | Ácido propiónico; |
| 4:0 | Ácido butírico; |
| 5:0 | Ácido valérico; |
| 6:0 | Ácido caproico; |
| a- | Anteiso; |
| a* | Índice de vermelho; |
| ACC | Enzima acetil-CoA; |
| ADF | Fibra ácido detergente (Acid Detergent Fibre); |

| | |
|------------------------|--|
| AG | Ácidos gordos; |
| AG C18 | Ácidos gordos com 18 carbonos, ácidos octadecanóicos; |
| AG <i>trans</i> | Ácidos gordos com pelo menos uma ligação dupla com configuração <i>trans</i> ; |
| AGV | Ácidos gordos voláteis; |
| ARA | Ácido araquidónico (20:4n-6); |
| ATP | Adenosina trifosfato; |
| B | Dieta com 3% de bentonite; |
| b* | Índice de amarelo; |
| BCFA | Ácidos gordos de cadeia ramificada (Branched-Chain Fatty Acids); |
| BCFA:OCFA | Rácio AG de cadeia ramificada:AG de cadeia ímpar; |
| BH | Bioidrogenação; |
| BMR | Bactérias mistas ruminais; |
| BSE | Encefalopatia espongiforme bovina (Bovine Spongiform Encephalopathy); |
| BV | Dieta com 1,5% de bentonite + 1,5% de vermiculite; |
| c | <i>Cis</i> ; |
| C | Dieta controlo; |
| C=C | Ligação dupla; |
| C14 | Ácidos tetradecanóicos; Ácidos gordos com 14 carbonos; |
| C16 | Ácidos hexadecanóicos; Ácidos gordos com 16 carbonos; |
| C18 | Ácidos octadecanóicos; Ácidos gordos com 18 carbonos; |
| c9,c12,c15-18:3 | Ácido linolénico (18:3n-3); |
| c9,c12-18:2 | Ácido linoleico (18:2n-6); |
| c9,t11-18:2 | Ácido ruménico; |
| c9-18:1 | Ácido oleico; |
| Ca | Cálcio; |
| ca. | Cerca de (do latim, <i>circa</i>); |
| Ca²⁺ | Ião cálcio; |
| CH₃ | Grupo metilo; |
| C-HDL | Colesterol associado às HDL; |
| CIE | Commission Internationale de l'Eclairase; |
| CIISA | Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal; |
| CLA | Isómeros conjugados do ácido linoleico (Conjugated Linoleic Acids); |
| C-LDL | Colesterol associado às LDL; |
| cm² | Centímetro quadrado; |
| c-MUFA | AG monoinsaturados com ligações duplas de configuração <i>cis</i> ; |
| CO₂ | Dióxido de carbono; |
| CoA | Coenzima A; |
| COOH | Grupo carboxílico; |
| CT | Colesterol total; |
| CT:C-HDL | Rácio colesterol total:colesterol associados às HDL; |
| CT:C-LDL | Rácio colesterol total:colesterol associados às LDL; |
| c-UFA | Ácidos gordos insaturados com pelo menos uma ligação dupla com configuração <i>cis</i> ; |
| D | Degradabilidade ruminal do amido; |
| d | Dia; |
| DBB | Densidade de biomassa bacteriana; |
| DDGS | Destilados secos de cereais com solúveis (Dried Distillers Grains with Solubles); |
| DDR | Dose diária recomendada; |

| | |
|------------------------|---|
| DDS | Dose diária sugerida; |
| DHA | Ácido docosahexaenóico (22:6n-3); |
| DMA | Dimetilacetil; |
| DP | Desvio padrão; |
| DP | Desvio padrão; |
| DPA | Ácido docosapentaenóico (22:5n-3); |
| E | Energia; |
| EE | Extrato etéreo; |
| EFSA | European Food Safety Authority; |
| EPA | Ácido eicosapentaenóico (20:5n-3). |
| ESAC-IPC | Escola Superior Agrária de Coimbra – Instituto Politécnico de Coimbra; |
| et al. | E colaboradores; |
| EUA | Estados Unidos da América; |
| FA | Ácidos gordo (Fatty Acid); |
| FAME | Ésteres metílicos de ácidos gordos (Fatty Acid Methyl Ester); |
| FAO | Food and Agriculture Organization; |
| FAS | Sintetase de ácidos gordos (Fatty Acid Sintetase); |
| FC | Força de corte; |
| FCT | Fundação para a Ciência e Tecnologia; |
| Fe²⁺ | Ferro no estado ferroso; |
| Fe³⁺ | Ferro no estado férrico; |
| FEDNA | Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal; |
| FL | Fosfolípidos; |
| g | Força da gravidade; |
| g | Grama; |
| GB | Gordura bruta; |
| GC | Cromatografia gasosa; |
| GC-MS | Cromatografia gasosa - espectrometria de massa; |
| GL | Glicolípidos; |
| GLUT4 | Iso-forma 4 do transportador de glucose; |
| GMD | Ganho médio diário; |
| GPR | Gordura pélvica e renal; o mesmo que KKCF; |
| h | Hora; |
| H⁺ | Ião hidrogénio; |
| H₂O | Água; |
| HCl | Ácido clorídrico; |
| HDL | Lipoproteínas de alta densidade (High Density Lipoprotein); |
| HPJ | Peças nobres (High Price Joints); |
| SHSD | Dieta com nível alto de amido e degradabilidade ruminal do amido alta; |
| HSMD | Dieta com nível alto de amido e degradabilidade ruminal do amido média; |
| i- | Iso; |
| i.e. | Isto é(do latim, <i>Id est</i>); |
| i-4:0 | Ácido iso-butírico = ácido 3-metil-propiónico; |
| i-5:0 | Ácido iso-valérico = ácido 4-metil-butírico; |
| i-6:0 | Ácido iso-caproico; |
| IBH | Intermediários da bioidrogenação ruminal; |
| ID | Intestino delgado; |
| IMF | Gordura intramuscular (IntraMuscular Fat); |

| | |
|-------------------------|--|
| IMS | Ingestão de matéria seca; |
| INSA | Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge; |
| IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry; |
| ISO | Normas da Organização Internacional de Padronização (International Organization for Standardization); |
| K | Potássio; |
| kcal | Quilocalorias; |
| kg | Quilograma; |
| KKCF | Kidney Kob Chanel Fat; o mesmo que GPR; |
| L | Litro; |
| L* | Luminosidade; |
| LAB | Bactérias associadas à fase líquida ruminal (Liquid Associated Bacteria); |
| LC-PUFA | Ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa (Long Chain PolyUnsaturated Fatty Acids); |
| LC-SFA | Ácidos gordos saturados de cadeia longa; |
| LD | Lípidos da dieta; |
| LDL | Lipoproteínas de baixa densidade (Low Density Lipoprotein); |
| LPL | Lipase lipoproteica; |
| m | Metro; |
| Mg | Magnésio; |
| mg | Miligrama; |
| Mg²⁺ | Ião magnésio; |
| MgCl₂ | Cloreto de magnésio; |
| min | Minuto; |
| mL | Mililitro; |
| mm | Milímetro; |
| mmol | Milimoles; |
| MS | Matéria seca; |
| MSHD | Dieta com nível médio de amido e degradabilidade ruminal do amido alta; |
| MSMD | Dieta com nível médio de amido e degradabilidade ruminal do amido média; |
| MUFA | Ácidos gordos monoinsaturados (MonoUnsaturated Fatty Acids); |
| n | Número de observações; |
| N | Newton; |
| n-3 | Omega 3; Ácidos gordos polinsaturados com ligação dupla no terceiro carbono contado a partir do grupo metilo terminal; |
| n-3 LC-PUFA | Ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa da série n-3; |
| n-3 PUFA | Ácidos gordos polinsaturados da série n-3; |
| n-6 | Omega 6; Ácidos gordos polinsaturados com ligação dupla no sexto carbono contado a partir do grupo metilo terminal; |
| n-6 LC-PUFA | Ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa da série n-6; |
| n-6 PUFA | Ácidos gordos polinsaturados da série n-6; |
| n-9 | Omega 9; Ácidos gordos polinsaturados com ligação dupla no nono carbono contado a partir do grupo metilo terminal; |
| Na | Sódio; |
| NaCl | Cloreto de sódio; |
| NAD | Nicotinamida-adenina dinucleótido; |
| NADP | Nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato; |
| NADP⁺ | Nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato, forma oxidada; |
| NADPH | Nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato, forma reduzida; |

| | |
|------------------------|---|
| ND | Não detetado; |
| NDF | Fibra neutro detergente (Neutral Detergent Fibre); |
| O₂ | Oxigénio; |
| OBCFA | Ácidos gordos de cadeia ímpar e de cadeia ramificada (Odd and Branched Chain Fatty Acids); |
| OCFA | Ácidos gordos de cadeia ímpar (Odd-Chain Fatty Acids); |
| P | Probabilidade de f; |
| PB | Proteína bruta; |
| PCF | Peso da carcaça fria; |
| PCQ | Peso da carcaça quente; |
| PDH | Piruvato desidrogenase (Pyruvate DeHydrogenase); |
| PFK | Fosfofrutoquinase (PhosphoFructoKinase); |
| PO₄ | Grupo fosfato; |
| PPO | Polifenol oxidases (PolyPhenol Oxidase); |
| PUFA | Ácidos gordos polinsaturados (PolyUnsaturated Fatty Acids); |
| PV | Peso vivo; |
| Rácio F:C | Rácio forragem:concentrado; |
| Rácio n-6:n-3 | Rácio n-6 PUFA: n-3 PUFA; |
| Rácio P:S | Rácio AG polinsaturados:AG saturados; |
| Rácio t10/t11 | Rácio t10-18:1/t11-18:1; |
| S | Nível de amido; |
| s | Segundo; |
| SAB | Bactérias associadas à fase sólida ruminal (Solid Associated Bacteria); |
| SAB₁ | Bactérias ligadas à fração sólida, mas que facilmente se desprendem; |
| SAB₂ | Bactérias fortemente ligadas à fração sólida; |
| SAS | Programa informático de análise estatística de dados: Statistical Analysis System ®; |
| SCD | Estearoil-CoA dessaturase ou enzima delta9-desaturase; o mesmo que Δ9D; |
| SEM | Erro padrão da média (Standard Error of the Mean); |
| SF | Força de corte (Shear force); o mesmo que FC; |
| SFA | Ácidos gordos saturados (Saturated Fatty Acids); |
| sn-1 | Carbono 1 da molécula de glicerol de acordo com a projeção de Fisher; |
| sn-2 | Carbono 2 da molécula de glicerol de acordo com a projeção de Fisher; |
| sn-3 | Carbono 3 da molécula de glicerol de acordo com a projeção de Fisher; |
| SO₄ | Grupo sulfato; |
| t | <i>Trans</i> ; |
| t,t-18:2 | Ácidos octadecadienóicos com ligações duplas de configuração <i>trans</i> ; |
| t11-18:1 | Ácido vacénico; |
| t-18:1 | Ácidos octadecenóicos com ligação dupla de configuração <i>trans</i> ; |
| TAG | Triacilgliceróis; |
| t-MUFA | Ácidos gordos monoinsaturados com ligações duplas de configuração <i>trans</i> ; |
| trans-C18 | Ácidos gordos com 18 carbonos e pelo menos uma ligação dupla com configuração <i>trans</i> ; |
| t-UFA | Ácidos gordos insaturados com pelo menos uma ligação dupla de configuração <i>trans</i> ; |
| UE | União Europeia; |
| UEISPSA–INIAV | Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção e Saúde Animal – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária; |
| UFA | Ácidos gordos insaturados (Unsaturated Fatty Acids); |

| | |
|-------------------------------|---|
| V | Vermiculite; |
| v/v | Volume/volume. |
| VFA | Ácidos gordos voláteis (Volatile Fatty Acids); o mesmo que AGV; |
| VLC-SFA | Ácidos gordos saturados de cadeia muito longa; |
| VLDL | Lipoproteína de muito baixa densidade (Very Low Density Lipoprotein); |
| vs. | <i>Versus</i> ; |
| $\Delta 9D$ | Enzima delta9-desaturase ou estearoil-CoA dessaturase; o mesmo que SCD; |
| Σ | Somatório; |

CAPÍTULO 1

Introdução Geral e Objetivos

1.1 Introdução geral

Estima-se que nas próximas três décadas ocorra um aumento da procura de alimentos de origem animal (Tabela 1.1) motivado, em grande parte, pelo crescimento da população mundial, que se prevê poder atingir valores de 9,15 mil milhões em 2050, mas também pelo aumento do rendimento familiar e pela crescente urbanização (Thornton, 2010). A satisfação do aumento substancial na procura de alimentos terá, contudo, profundas implicações nos sistemas de produção animal nas próximas décadas. Historicamente, a resposta produtiva tem sido caracterizada por diferenças regionais nos sistemas de produção. Nos países industrializados, os sistemas de produção animal intensivos estão na origem da maioria da carne produzida, principalmente de aves e suínos, e tais sistemas têm sido implementados também nos países em desenvolvimento, particularmente na Ásia, de modo a satisfazer o aumento da procura. Deste modo, prevê-se que, pelo menos, 75% do aumento total da produção animal até 2030 seja realizado com base em sistemas de produção intensivos (Alexandratos and Bruinsma, 2012).

Tabela 1.1– Consumo anual *per capita* de carne (kg/pessoa/ano) em diversas regiões do globo nos períodos de 1969-1971, 1989-1991, 2005-2007 e estimativas para 2030 e 2050.

| | 1969/71 | 1989/91 | 2005/07 | 2030 | 2050 |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|------|------|
| Mundo | 26 | 33 | 39 | 45 | 49 |
| Países em desenvolvimento | 11 | 18 | 28 | 36 | 42 |
| Próximo Oriente e Norte de África | 12,3 | 19 | 23,7 | 31,6 | 38,5 |
| África subsaariana | 9,9 | 9,4 | 10,1 | 12,4 | 16 |
| América Latina e Caribe | 33 | 42 | 61 | 74,6 | 84 |
| Ásia Oriental | 9,3 | 22,8 | 44,3 | 61,2 | 71,1 |
| Sul da Ásia | 3,9 | 4,6 | 4,4 | 9,6 | 18 |
| Países desenvolvidos | 63 | 80 | 80 | 87 | 91 |

[adaptado de Alexandratos and Bruinsma, 2012]

Globalmente, os aumentos na produtividade animal no passado recente foram conseguidos pela aplicação da ciência e tecnologia animal pelo que os desenvolvimentos científicos e tecnológicos nas áreas da genética, reprodução, nutrição e sanidade animal irão continuar a contribuir para aumentar o potencial de produção, proporcionando novos ganhos genéticos e de eficiência (Thornton, 2010). Contudo, a procura de produtos de origem animal, em particular nos países desenvolvidos, irá ser cada vez mais moderada por fatores socioeconómicos, tais como preocupações com a saúde e alterações nos valores socioculturais (Hocquette and Chatellier, 2011; Pethick et al., 2010; Thornton, 2010).

No que se refere à União Europeia, a capacidade de consumo de produtos de origem

animal tende para a saturação. Este fenómeno está ligado ao elevado grau de satisfação das necessidades primárias e ao fraco crescimento demográfico na maioria dos países europeus (Alexandratos and Bruinsma, 2012). Está também ligado igualmente à relação estabelecida, pelos consumidores, entre o consumo excessivo de proteínas de origem animal e o aumento da ingestão alimentar de gorduras, particularmente gorduras saturadas, e a possíveis relações com certas patologias frequentes nas sociedades industriais (cancro, distúrbios metabólicos, diabetes ou obesidade). Por fim, as sucessivas crises relacionadas com a segurança dos alimentos, quer em termos químicos quer biológicos (BSE, gripe aviária, dioxinas, nitrofuranos), fortemente mediatizadas, tornaram o consumidor mais atento relativamente à segurança dos alimentos de origem animal (Gondret and Hocquette, 2006). Deste modo, a garantia de qualidade sanitária, em primeiro lugar, mas também a garantia de homogeneidade dos produtos e a melhoria das suas qualidades organoléticas e dietéticas são fundamentais e necessárias para a manutenção do consumo de produtos de origem animal e, em particular, de carne (Pethick et al., 2010). Neste contexto, a incidência crescente de várias doenças crónicas, como as doenças cardiovasculares e o cancro, têm motivado uma extensa investigação sobre os alimentos que aumentam o seu risco, nomeadamente no que se refere às gorduras de origem animal (Barendse, 2014; Salter, 2013).

Apesar da sua riqueza nutricional, o consumo de carne tem sido considerado como promotor de doença (FAO, 2010; Mouratidou et al., 2014; Salter, 2013). Contudo, a comunidade científica tem contribuído para desmistificar esta imagem negativa sobre a saúde humana (Barendse, 2014; Binnie et al., 2014; Lawrence, 2013; McAfee et al., 2010; Pereira and Vicente, 2013; Wang et al., 2012) e tem ajudado a salientar o papel crucial da carne na evolução humana, especialmente as carnes vermelhas¹ (Pereira and Vicente, 2013). É hoje reconhecido o papel da carne ao longo da evolução humana no desenvolvimento do sistema gastrointestinal bem como das características crânio-dentárias e da postura ereta, bípede, contribuindo para a distinção do homem em relação a outros homínídeos. Na atualidade, a carne continua a fornecer nutrientes fundamentais e tem um papel vital na vida humana devido às suas proteínas de elevado valor biológico e aos níveis de ferro, zinco, selénio e vitamina B₁₂ (Binnie et al., 2014; EFSA, 2012; Pereira and Vicente, 2013; Williams, 2007; Wyness et al., 2011). A maioria destes nutrientes estão presentes em quantidades adequadas numa dieta equilibrada, não existindo por isso deficiências. Contudo, sabe-se que determinados oligoelementos e vitaminas são deficientes em alguns

¹ – Carnes vermelhas – A definição de carne vermelha varia com o país. No presente trabalho, e de acordo com Williamson et al. (2005), considera-se carne vermelha toda a carne de bovino, ovino e suíno (fresca, picada ou congelada). Em Portugal, não existe uma definição oficial para carne vermelha, contudo, a tabela de composição dos alimentos portuguesa (INSA, 2015) diferencia dois grupos: (1) a carne e (2) a carne de criação e caça. O primeiro, que pode ser considerado o grupo das carnes vermelhas, inclui a carne de borrego, de cabrito, de carneiro, de porco, de vaca e de vitela; o segundo inclui a carne de codorniz, de coelho, de frango, de pato, de perdiz e de peru.

grupos populacionais [por exemplo, Vitamina B₁₂(EFSA, 2015; O’Leary and Samman, 2010); Vitamina D (Schmid and Walther, 2013); Ferro e Zinco (Lim et al., 2013; Wyness, 2015)]. Em relação a alguns destes micronutrientes, a carne é definida como uma “fonte de” ou como “fonte rica em” de acordo com a regulamentação europeia(UE, 2010, 2006)². Na Tabela 1.2 apresentam-se algumas das alegações que legalmente podem ser utilizadas em diferentes tipos de carne.

Tabela 1.2– Classificação das carnes vermelhas de acordo com as alegações nutricionais prevista na legislação europeia.

| Nutriente | DDR* | Novilho | Vitela | Borrego | Porco |
|--|------|------------|------------|------------|------------|
| Tiamina – vitamina B ₁ (mg) | 1,1 | - | - | - | Fonte rica |
| Niacina – vitamina B ₃ (mg) | 16 | Fonte rica | Fonte rica | Fonte rica | Fonte rica |
| Cobalamina – vitamina B ₁₂ (µg) | 2,5 | Fonte rica | Fonte rica | Fonte rica | Fonte rica |
| Vitamina D (µg) | 5 | - | Fonte | - | - |
| Ferro (mg) | 14 | Fonte | - | - | - |
| Zinco (mg) | 10 | Fonte rica | Fonte | Fonte rica | Fonte |
| Selénio (mg) | 55 | - | - | - | Fonte |
| Potássio (mg) | 2000 | Fonte | Fonte | Fonte | Fonte |

[* – DDR – Dose diária recomendada; de acordo com UE (2006, 2010); adaptado de Wyness (2015)]

O teor de gordura, fator de preocupação no que se refere ao consumo de carne, é variável dependendo da espécie animal, genótipo, alimentação, idade de abate, sistema de produção e localização anatômica da peça (Gondret and Hocquette, 2006; Webb and O’Neill, 2008). Peças magras, como o lombo de porco ou de novilho, não diferem de forma significativa do peito de frango ou peru sem pele, pelo que a sua riqueza nutricional justifica a sua inclusão numa dieta equilibrada (McNeill, 2014; Pereira and Vicente, 2013). Para além disso, é importante não esquecer que as matérias gordas adicionadas durante a confeção dos alimentos contribuem, em muito, para o teor em lípidos das carnes cozinhadas (Gondret and Hocquette, 2006). Assim, um conjunto crescente de evidências apontam para a necessidade de mudança de paradigma no que se refere às recomendações sobre o consumo de carnes vermelhas (Binnie et al., 2014) como forma de reduzir o risco de cancro, obesidade e síndrome metabólico (Biesalski, 2005). Remover totalmente a carne da dieta pode aumentar o risco de várias deficiências nutricionais e condicionar a saúde humana e o balanço nutricional (Pereira and Vicente, 2013; Williamson et al., 2005).

Nas últimas décadas as recomendações nutricionais têm aconselhado evitar o consumo de

²– De acordo com a legislação europeia um alimento pode ser definido como “fonte de” se contiver ≥15% da dose diária recomendada (DDR) de uma determinada vitamina ou mineral por 100 g ou como “fonte rica em” se contiver ≥30% da DDR(UE, 2010, 2006).

gorduras saturadas de modo a prevenir doenças cardiovasculares (Barendse, 2014; Lawrence, 2013; Salter, 2013) levando a uma significativa diminuição do consumo de produtos de origem animal, em particular de carne, mesmo quando os dados mais recentes apontam para um consumo dentro dos limites nutricionais estabelecidos nos países desenvolvidos (Binnie et al., 2014; Wyness et al., 2011). Contudo, as recomendações nutricionais mais recentes (Tabela 1.3) salientam a importância de manter uma dieta equilibrada (McNeill, 2014) como forma de reduzir a incidência de doenças como a obesidade, diabetes tipo-2, cancro e doenças cardiovasculares (EFSA, 2010; FAO, 2010).

Tabela 1.3– Recomendações nutricionais relativas à ingestão total de gorduras e de ácidos gordos em humanos adultos.

| | Organização | |
|------------------|---------------|-------------------------|
| | FAO* | EFSA** |
| Total de lípidos | 20-35% E | 20-35% E |
| SFA | <10% E | O mais baixo possível |
| AG <i>trans</i> | <1% E | O mais baixo possível |
| MUFA | Por diferença | Sem valor de referência |
| PUFA | 6-11% E | Sem valor de referência |
| n-3 PUFA | 0,5-2% E | Sem valor de referência |
| 18:3n-3 | >0,5% E | 0,5% E |
| EPA+DHA | 0,250 a 2g/d | 250 mg/d |
| n-6 PUFA | 2,5-9% E | 18:2n-6 = 4% E |

[*adaptado de FAO, 2010; ** adaptado de EFSA, 2010; % E – em % da ingestão diária de energia]

Em muitos países desenvolvidos, o consumo de ácidos gordos saturados (SFA) está associado com o consumo de produtos derivados dos ruminantes (carne e leite) o que tem contribuído para uma imagem negativa destes produtos (McAfee et al., 2010; Valsta et al., 2005). Os produtos dos ruminantes tipicamente contêm proporções relativamente elevadas de SFA (devido ao processo de bioidrogenação que ocorre no rúmen destes animais) bem como ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e pequenas quantidades de ácidos gordos polinsaturados (PUFA). Os SFA 12:0, 14:0 e 16:0, que representam a maior parte dos SFA presentes em muitos dos produtos dos ruminantes, têm sido implicados no aumento do colesterol total e do colesterol associado às LDL (Salter, 2013; Williams, 2000). Contudo, segundo Mensink et al. (2003) o rácio colesterol total:colesterol associado às HDL (CT:C-HDL) será um marcador mais específico do risco de doença coronária. Segundo o mesmo autor, por exemplo, o 16:0, um dos principais SFA presente na carne, nomeadamente na de animais ruminantes, aumenta simultaneamente o colesterol associado

às LDL (C-LDL) e às HDL (C-HDL), pelo que tem pouco efeito no rácio CT:C-HDL. A este respeito o 18:0, presente nos produtos edíveis de animais ruminantes em resultado do processo de BH ruminal, apresenta um efeito favorável.

O c9-18:1 é o principal MUFA presente na carne de animais ruminantes, sendo que os restantes MUFA se apresentam, geralmente, sob a forma de isómeros *t*-18:1. O 18:2n-6 e o 18:3n-3 são os principais PUFA presentes na carne de ruminantes, conjuntamente com proporções significativas dos seus produtos de dessaturação e alongação, ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5n-3), ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6n-3) e ácido araquidónico (20:4n-6) (Schmid, 2011).

De um modo geral, os PUFA e os MUFA são vistos como benéficos para a saúde humana (Mensink et al., 2003; Salter, 2013), existindo evidências, em modelos animais e em culturas de células, que suportam o efeito benéfico do *t*11-18:1 (frequentemente o principal AG *trans* presente na carne de animais ruminantes) (Lim et al., 2014), embora relativamente a este último o assunto seja controverso e permaneça em debate (Aldai et al., 2013; Mapiye et al., 2015; McAfee et al., 2010). Para além disso, a gordura presente nos produtos dos ruminantes é também uma importante fonte de isómeros conjugados do ácido linoleico (CLA) (Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015) em relação aos quais têm sido identificadas, em modelos biológicos, diversas propriedades potencialmente benéficas para a saúde humana (Crumb, 2011; Park, 2009; Singh and Sachan, 2011). Neste contexto, a investigação tem procurado desenvolver estratégias que permitam alterar a composição em AG dos produtos de origem animal, diminuindo o seu teor em SFA e aumentando o teor em c9-18:1, n-3 PUFA e CLA, compatibilizando-os com as atuais recomendações nutricionais para humanos (Scollan et al., 2014; Shingfield et al., 2013).

É também um objetivo importante evitar o aumento dos isómeros *trans*, em particular o *t*10-18:1 (frequentemente o principal isómero *t*-18:1 presente com dietas à base de alimento concentrado, ricas em amido), que ocorre quando se procura reduzir o teor em SFA e aumentar os PUFA ou os CLA nos produtos dos ruminantes. O consumo de AG *trans* tem sido associado com o aumento das concentrações plasmáticas de colesterol total e colesterol associados às LDL. Contudo, existem indícios que sugerem que os isómeros *t*9-18:1 e *t*10-18:1 são mais potentes no aumento das concentrações plasmáticas de colesterol associado às LDL, do que o *t*11-18:1. Será, por isso, também necessário esclarecer os efeitos específicos de cada isómero e de que forma variam entre alimentos (Aldai et al., 2013; Mapiye et al., 2015) de modo a definir estratégias que permitam produzir alimentos de origem animal com um perfil adequado de AG. Para além disso, ao contrário dos SFA, os AG *trans* quando substituem os c-UFA da dieta também diminuem o colesterol associados às HDL (Filip and Vidrih, 2012; Williams, 2000). Em resposta às preocupações com os impactos do consumo de AG *trans* no risco de doenças cardiovasculares, vários

países implementaram (Áustria, Canadá, Dinamarca, EUA, Hungria, Islândia, Noruega, Suíça) ou planeiam introduzir legislação que contemple este risco para a saúde pública (Filip and Vidrih, 2012; Mouratidou et al., 2014).

No que se refere à modificação do teor e composição em AG da carne de ruminantes, esta tem sido conseguida por manipulação da alimentação dos animais e, em menor extensão, pela genética (Vahmani et al., 2015). Diversas revisões sobre o impacto da nutrição, incluindo o papel do rúmen, ao nível do metabolismo lipídico têm sido publicadas nos últimos anos (por exemplo, (Bessa et al., 2015, 2000; Doreau et al., 2012; Palmquist et al., 2005; Shingfield et al., 2013; Sinclair, 2007).

1.2 Objetivos

Este trabalho teve como principal objetivo estudar o efeito de duas estratégias nutricionais na melhoria do perfil de AG da carne de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado suplementadas com óleos vegetais (óleo de linhaça e girassol, 2:1, 60 g/kg de alimento). Para o efeito foram realizados dois ensaios que se descrevem, de forma sumária, de seguida.

No **ensaio 1** (Capítulos 3 e 4) utilizámos dietas à base de alimento concentrado diferindo no nível de amido e na degradabilidade ruminal do amido. Neste ensaio a estratégia nutricional utilizada consistiu (Figura 1.1):

- i) na suplementação das dietas com lípidos ricos em PUFA com o objetivo de fornecer, por um lado, substrato para a BH ruminal e, por outro, aumentar a deposição de PUFA nos lípidos da carne;
- ii) na redução do nível de amido por substituição parcial dos cereais por polpa de citrinos desidratada de modo a criar condições ao nível do rúmen que permitam reduzir o *shifttrans*-10 e, consequentemente, aumentar a produção de *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2 no rúmen e a sua deposição na gordura intramuscular (IMF) da carne de borrego;
- iii) na redução da degradabilidade ruminal do amido, substituindo parcialmente o trigo do alimento composto por milho, com o objetivo reduzir o *shifttrans*-10 e, aumentar a produção de *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2 no rúmen e a sua deposição na gordura intramuscular da carne de borrego.

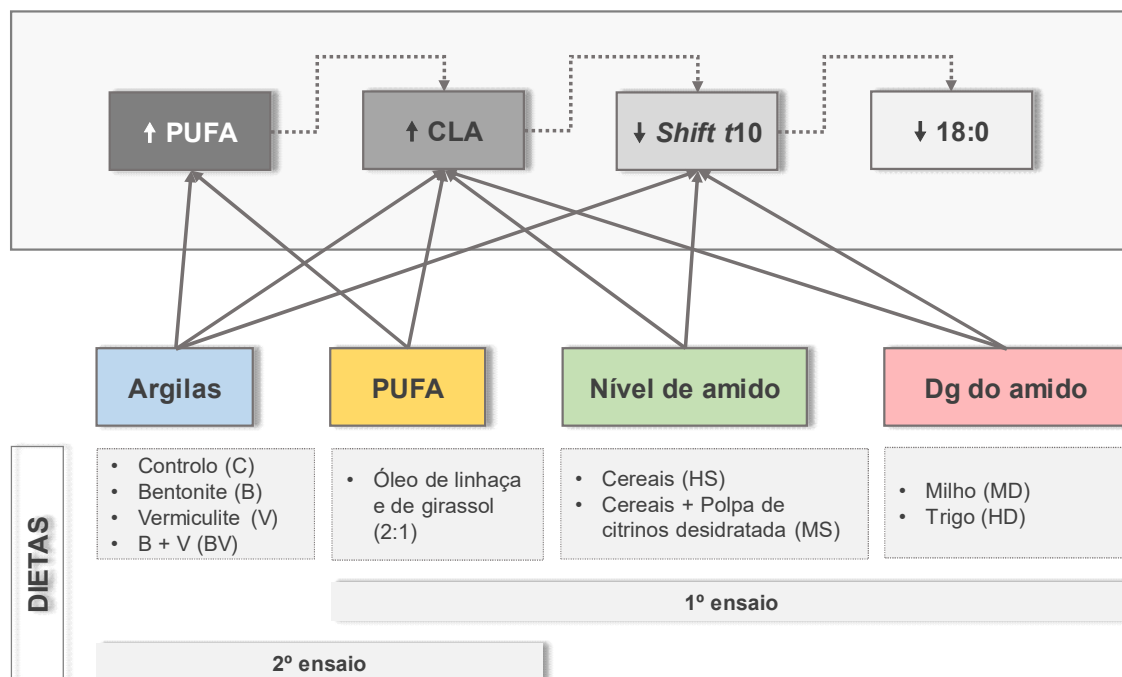
No **ensaio 2** (Capítulo 5) utilizámos dietas à base de alimento concentrado suplementadas com argilas. Neste ensaio a estratégia nutricional utilizada consistiu (Figura 1.1):

- i) na suplementação das dietas com lípidos ricos em PUFA com o objetivo de fornecer, por um lado, substrato para a BH ruminal e, por outro, aumentar a deposição de

PUFA nos lípidos da carne;

- ii) na inclusão de argilas (bentonite, vermiculite ou uma mistura equitativa das duas) com o objetivo reduzir o *shifttrans*-10 e/ou proteger os PUFA do processo de BH ruminal e, conseqüentemente, aumentar a produção de *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2 no rúmen e a deposição de *t*11-18:1, *c*9,*t*11-18:2 e PUFA na IMF da carne de borrego.

Figura 1.1– Estratégias nutricionais utilizadas no presente trabalho com vista à melhoria do perfil lipídico da carne de borrego.



Em ambos os ensaios procedemos igualmente à avaliação do efeito das estratégias nutricionais utilizadas sobre o desempenho produtivo dos animais, composição da carcaça e qualidade da carne de borrego.

Esta tese encontra-se organizada em 7 capítulos. Este primeiro capítulo consta de uma introdução geral e da apresentação dos objetivos do presente trabalho, que é seguida de uma revisão bibliográfica (Capítulo 2). Os três capítulos seguintes (Capítulos 3, 4 e 5) contêm os resultados dos 2 ensaios realizados onde foram utilizadas duas estratégias nutricionais como forma de modular o perfil de AG da carne de borrego, com dietas à base de alimento concentrado suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. No capítulo 6 discutimos os resultados obtidos com as duas estratégias nutricionais utilizadas e por fim apresentamos as conclusões gerais desta tese (Capítulo 7).

CAPÍTULO 2

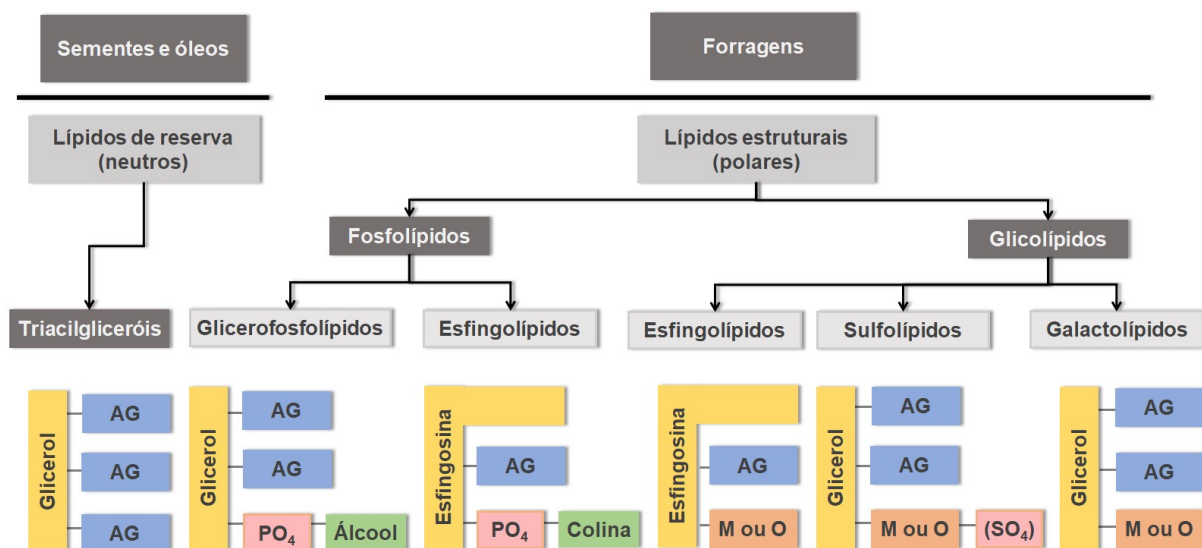
Revisão Bibliográfica

2.1 Considerações iniciais sobre lípidos e ácidos gordos

Lípidos é o termo geralmente utilizado para descrever um grupo quimicamente diverso de compostos orgânicos presentes nos organismos vivos (Nelson and Cox, 2005). Embora a maioria das famílias de moléculas orgânicas sejam definidas pela sua estrutura química, os lípidos, por seu lado, têm sido caracterizados por uma propriedade física: a sua solubilidade à temperatura ambiente. Assim, os lípidos são frequentemente definidos como compostos orgânicos geralmente de natureza hidrofóbica e, em muitos casos, solúveis apenas em solventes orgânicos de baixa polaridade (metanol, benzeno, clorofórmio, etc.) (Nelson and Cox, 2005), encontrando-se atualmente agrupados, segundo Fahy (2005), em 8 classes: ácidos gordos, glicerolípidos, glicerofosfolípidos, esfingolípidos, sacarolípidos, poliquétidos, esteróis e prenóides.

Apesar de os lípidos englobarem uma grande variedade de moléculas, os mais importantes quantitativamente em alimentação animal, e em particular no caso da alimentação de animais ruminantes, são aqueles que contêm ácidos gordos (AG) unidos a glicerol: triacilgliceróis (TAG), glicolípidos (GL) e fosfolípidos (FL) (Figura 2.1). Os primeiros são majoritários nos lípidos das matérias-primas não forrageiras enquanto os restantes dois predominam nos lípidos das forragens (Morand-Fehr and Tran, 2001).

Figura 2.1– Classes de lípidos mais frequentemente presentes nos alimentos utilizados na alimentação de animais ruminantes.



[AG – ácido gordo; PO₄ – grupo fosfato; SO₄ – grupo sulfato; M – monossacarídeo; O – oligossacarídeo; adaptado deBuccioni et al. (2012); Nelson and Cox (2005)]

2.1.1 Ácidos gordos e regras de nomenclatura

Os AG são os constituintes básicos dos lípidos mais frequentemente encontrados nos

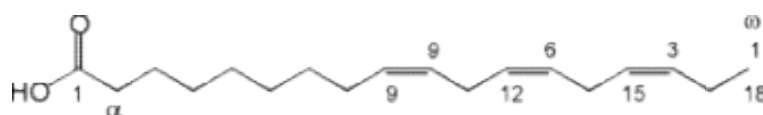
alimentos e nos produtos dos ruminantes. Neste ponto não se pretende fazer uma abordagem exaustiva das categorias de AG nem da sua nomenclatura, mas apenas definir alguns conceitos e apresentar a nomenclatura que irá ser utilizada ao longo deste trabalho.

Os AG são ácidos monocarboxílicos de cadeia alifática hidrófoba saturada ou insaturada, consoante a presença ou não de ligações duplas. A nomenclatura geral segue a representação m:n, onde m representa o número de carbonos e n o número de ligações duplas. O comprimento da cadeia hidrocarbonada permite a classificação dos AG em 4 categorias: AG voláteis ($m=2, 3, 4$ ou 5), AG de cadeia curta ($m=6$ a 10), AG de cadeia média ($m=12$ a 14), AG de cadeia longa ($m \geq 16$) e AG de cadeia muito longa ($m \geq 20$) (Cuvelier et al., 2004; Nelson and Cox, 2005).

No entanto, os AG diferenciam-se não só pelo comprimento da sua cadeia hidrocarbonada, mas também pelo número, posição e configuração (*cis* ou *trans*) da ou das ligações duplas presentes. Quando um AG apresenta uma ligação dupla, designa-se por AG monoinsaturado (MUFA), sendo depois necessário indicar a posição da ligação dupla. Para este efeito existem duas nomenclaturas:

- Se a numeração dos carbonos se inicia pelo grupo carboxílico (carbono α ; Figura 2.2), o número do carbono que contém a ligação dupla é precedido da letra delta (Δ). A nomenclatura sistemática, por vezes dita “química”, é a recomendada pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry);
- Se, pelo contrário, a numeração dos carbonos se inicia pelo grupo metilo terminal (*i.e.*, carbono ómega, ω -; Figura 2.2), o carbono que contém a ligação dupla é numerado (x) precedido da letra “n” e o sinal aritmético “-” ($n-x$). Esta nomenclatura, dita “nutricional”, embora não sendo oficial, é muitas vezes utilizada pelos nutricionistas na sua forma abreviada (ou seja, apenas é indicada a posição da primeira ligação dupla) e permite classificar os AG com ligações duplas *cis* interrompidas por, pelo menos, um grupo metilénico em séries: série n-3, n-6 ou n-9, por exemplo. Segundo esta nomenclatura, por exemplo, o ácido linoleico, c9,c12-18:2, será apenas designado como 18:2n-6.

Figura 2.2– Exemplificação da numeração dos carbonos do ácido linolénico de acordo com a nomenclatura química e nutricional.



De modo a completar a nomenclatura, a configuração das ligações duplas deve ser indicada, podendo esta ser *cis* (com angulação da molécula ao nível da ligação dupla) ou *trans* (com reduzida angulação da molécula) (Cuvelier et al., 2004). Ao longo deste trabalho,

a configuração *cis* será abreviada como “*c*” e a *trans* como “*t*”. Assim, um MUFA pode ter uma ligação dupla de configuração *cis* ou *trans*, podendo aquela estar localizada em diferentes pontos da molécula hidrocarbonada. Por exemplo, o ácido oleico (c9-18:1) tem por isômero geométrico o ácido eláidico (t9-18:1) e por isômero posicional o ácido vacénico (t11-18:1).

Se existirem duas ou mais ligações duplas, o AG é classificado como polinsaturado (PUFA), podendo este ser conjugado (ou seja, as ligações duplas encontram-se separadas por uma única ligação simples, =C-C=) ou não conjugado (ou seja, as ligações duplas encontram-se separadas por, pelo menos, um grupo metilénico, =C-C-C=). A maior parte dos PUFA têm ligações duplas interrompidas por grupos metilénicos (Cuvelier et al., 2004; Morand-Fehr and Tran, 2001).

Embora a nomenclatura sistemática recomendada pela IUPAC seja precisa e tecnicamente correta, resulta muitas vezes em nomes bastantes extensos pelo que, por conveniência, muitas vezes são utilizados pela comunidade científica nomes comuns e abreviaturas. Na Tabela 2.1 apresentam-se os principais AG presentes nos alimentos e nos produtos dos ruminantes, com indicação da abreviatura, nome sistemático e nome comum, bem como a sua fórmula condensada.

Tabela 2.1– Principais ácidos gordos presentes nos alimentos e nos produtos dos ruminantes.

| Abreviatura | Nome sistemático | Nome comum | Fórmula condensada |
|-------------|------------------------------------|--------------------|---|
| 14:0 | Ácido n-tetradecanóico | Ácido mirístico | CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -COOH |
| 16:0 | Ácido hexadecanóico | Ácido palmítico | CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH |
| 18:0 | Ácido n-octadecanóico | Ácido esteárico | CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH |
| c9-18:1 | Ácido c9-octadecenóico | Ácido oleico | CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH |
| t10-18:1 | Ácido t10-octadecenóico | - | CH ₃ -(CH ₂) ₆ -CH=CH-(CH ₂) ₈ -COOH |
| t11-18:1 | Ácido t11-octadecenóico | Ácido vacénico | CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-(CH ₂) ₉ -COOH |
| c9,t11-18:2 | Ácido c9,c12-octadecadienóico | Ácido ruménico | CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH |
| 18:2n-6 | Ácido c9,c12-octadecadienóico | Ácido linoleico | CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH |
| 18:3n-3 | Ácido c9,c12,c15-octadecatrienóico | α-Ácido linolénico | CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH |

[adaptado de Cuvelier et al., 2004; Nelson and Cox, 2005]

A presença de ligações duplas múltiplas num PUFA aumenta o número de isômeros possíveis. As nomenclaturas que indicam a posição e configuração das ligações duplas são extremamente importantes uma vez que são elas que conferem ao AG as suas propriedades biológicas, como é o caso dos isômeros conjugados do ácido linoleico (CLA). Os CLA são objeto de uma abundante literatura, devido a investigações recentes que sugerem os seus potenciais benefícios para a saúde humana, em particular ao nível do metabolismo lipídico, do sistema imunitário, da carcinogénese e do seu papel como moduladores da composição corporal (Crumb, 2011; Palmquist et al., 2005; Park, 2009; Singh and Sachan, 2011).

2.1.2 Fontes de lípidos na alimentação de ruminantes

Os lípidos presentes das dietas dos animais ruminantes representam, em geral, cerca de 3 a 6% da MS ingerida, atingindo por vezes valores mais altos que podem ir até aos 10% da MS ingerida, pelo que apresentam um importante papel nutricional como fontes de energia, AG essenciais, vitaminas lipossolúveis e pigmentos (Morand-Fehr and Tran, 2001). Para além disso, têm uma influência marcada nas características de qualidade dos produtos de origem animal como será abordado mais à frente no ponto 2.5 deste capítulo (Lípidos e qualidade sensorial da carne de ruminantes).

As dietas dos ruminantes podem apresentar composições variadas dependendo da espécie animal, do seu estado fisiológico e do custo e disponibilidade dos alimentos (Shingfield and Wallace, 2014). As dietas dos ruminantes contêm, normalmente, forragens em proporções muito variáveis, de espécies diversas (gramíneas, leguminosas, em verde ou sob a forma de fenos ou silagens) com diferentes graus de maturidade e valor nutricional. Dependendo do sistema de produção, a componente forrageira da dieta pode representar a totalidade do alimento disponível para os animais (no caso dos sistemas mais extensivos) ou constituir apenas uma pequena parte, de modo a garantir o adequado funcionamento do rúmen (no caso dos sistemas mais intensivos), implicando a suplementação com outro tipo de alimentos. Estes suplementos são produzidos, normalmente, a partir de cereais, sementes de oleaginosas e proteaginosas e respetivos subprodutos. Para além disso, é cada vez mais frequente a suplementação das dietas com lípidos, como forma de aumentar a densidade energética das dietas oferecidas (Palmquist et al., 2005).

A quantidade e a composição em AG diferem substancialmente entre os alimentos utilizados nas dietas dos ruminantes. O teor em lípidos e a composição em AG de alguns alimentos e suplementos utilizados na alimentação de ruminantes é apresentado na Tabela 2.2. Os lípidos dos cereais, óleos vegetais, produtos marinhos e respetivos subprodutos encontram-se, predominantemente, sob a forma de triacilgliceróis (TAG). Por outro lado, no caso das

Tabela 2.2– Teor em lípidos (g/kg de MS) e composição em ácidos gordos (g/100 g do total de ácidos gordos) de alguns alimentos e suplementos utilizados na alimentação de animais ruminantes.

| | Lípidos (g/kg MS) | Composição em AG (g/100 g de AG totais) | | | | | | |
|----------------------------------|----------------------|---|------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 16:0 | 18:0 | c9-18:1 | 18:2n-6 | 18:3n-3 | 20:5n-3 | 22:6n-3 |
| Pastagem ¹ | 27 | 16,9 | 2,1 | 3,8 | 15,8 | 52,6 | - | - |
| Silagem de azevém ¹ | 39 | 19,8 | 2,1 | 3,0 | 14,5 | 53,4 | - | - |
| Feno de azevém ⁴ | 31 | 17,1 | 1,5 | 2,85 | 16,8 | 55,5 | - | - |
| Feno de luzerna ¹ | 19 | 29,9 | 4,6 | 4,8 | 17,8 | 22,6 | - | - |
| Luzerna desidratada ² | 30 | 27,0 | 3,0 | 10,0 | 25,0 | 30,0 | - | - |
| Silagem de milho ¹ | 32 | 15,9 | 2,3 | 21,4 | 45,8 | 5,0 | - | - |
| Grão de milho ³ | 37 | 11,1 | 1,8 | 26,9 | 56,5 | 1,0 | - | - |
| Grão de trigo ³ | 15 | 17,8 | 0,8 | 15,2 | 56,4 | 5,9 | - | - |
| Corn gluten feed ³ | 27 | 11,1 | 1,8 | 26,9 | 56,5 | 1,0 | - | - |
| Bagaço de soja ³ | 17 | 10,5 | 3,8 | 21,7 | 53,1 | 7,4 | - | - |
| Óleo de girassol ⁴ | 962 | 6,1 | 3,6 | 26,5 | 60,4 | 0,1 | - | - |
| Óleo de colza ⁴ | 963 | 6,0 | 2,3 | 48,1 | 27,4 | 10,3 | - | - |
| Óleo de linhaça ⁴ | 953 | 4,2 | 2,7 | 16,5 | 15,8 | 57,8 | - | - |
| Óleo de peixe ⁴ | 950 | 15,0 | 2,6 | 11,0 | 1,2 | 0,9 | 16,5 | 10,5 |
| Microalgas ⁴ | 581 | 26,3 | 0,9 | 1,1 | 0,3 | 0,2 | <0,1 | 37,8 |

[adaptado de¹Glasser et al., 2013; ²Morand-Fehr and Tran, 2001; ³Sauvant et al., 2002; ⁴Shingfield and Wallace, 2014]

gramíneas e leguminosas forrageiras, a maioria dos lípidos encontram-se localizados nas membranas dos cloroplastos sob a forma de fosfolípidos (FL) e glicolípidos (GL) (Harfoot and Hazlewood, 1997; Palmquist et al., 2005), estes últimos principalmente sob a forma de galactolípidos. As forragens e as sementes de oleaginosas contêm também vários tipos de FL como componentes estruturais das membranas. Em geral, os AG que compõem os GL e FL são do tipo insaturado (Buccioni et al., 2012).

As gramíneas e leguminosas forrageiras contêm, normalmente, menos de 50 g de AG/kg de MS, sendo a maioria constituída por 18:3n-3 (Doreau et al., 2012), variando o teor e composição em AG em função da espécie, estado fenológico, condições de conservação e fertilização azotada (Dewhurst et al., 2006; Glasser et al., 2013). Os processos de conservação de forragens (fenação e ensilagem) levam a alterações significativas no teor e composição em AG relativamente ao material original (Alves et al., 2011; Dewhurst et al., 2006; Morand-Fehr and Tran, 2001) dependendo das condições de conservação. No caso do milho forragem, silagem de milho e grãos de cereais o AG que predomina é o 18:2n-6 (Alves et al., 2011; Palmquist et al., 2005).

Para além disso, as dietas dos ruminantes podem conter até cerca de 50 g/kg de MS de lípidos adicionados sob a forma de óleos ou de sementes de oleaginosas. Os óleos e as sementes de oleaginosas apresentam diferentes composições em AG dependendo da origem botânica. Alguns óleos e sementes são ricos em UFA, noutros dominam os SFA. Assim, a colza, girassol (variedade ricas em c9-18:1), azeitona e amendoim são ricos em c9-18:1; o algodão, cártamo, soja e girassol são ricos em 18:2n-6 enquanto o linho contém proporções relativamente elevadas de 18:3n-3 (Woods and Fearon, 2009). No caso do óleo de coco domina o ácido láurico (12:0) e no óleo de palma o ácido palmítico (16:0) (Woods and Fearon, 2009).

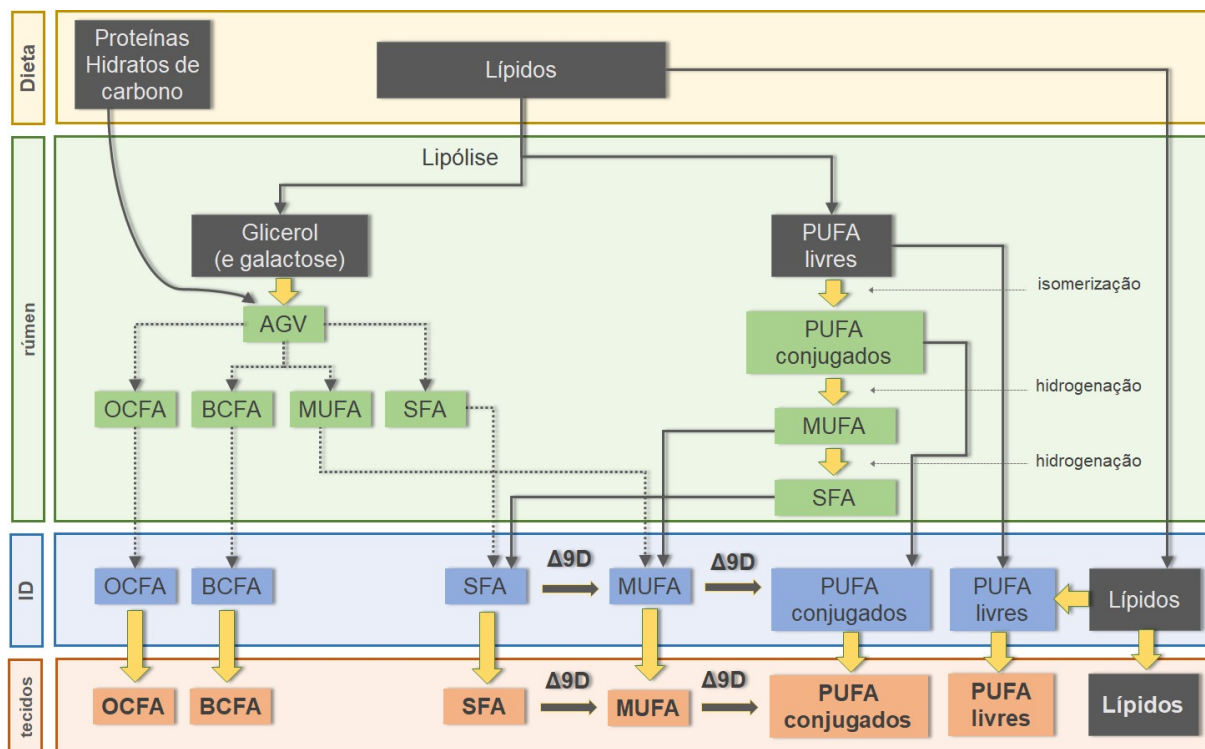
Para além dos óleos vegetais podem também ser utilizados na alimentação de ruminantes, dependendo da legislação de cada país, óleos de peixe, ricos em ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), e microalgas marinhas, ricas em 22:6n-3 (DHA)(Shingfield and Wallace, 2014).

2.2 Metabolismo dos lípidos no rúmen

Os lípidos, como vimos anteriormente, são um importante constituinte dos regimes alimentares dos ruminantes e ao longo das últimas décadas a sua adição às dietas, como forma de aumentar a densidade energética, tornou-se uma prática comum, principalmente em bovinos leiteiros e, mais recentemente, também nos bovinos de carne (Clinquart et al., 1995; Palmquist et al., 2005). Entretanto, a melhoria dos procedimentos analíticos revelou um complexo padrão de AG produzidos no rúmen e incorporados na carne e no leite daqueles animais, sendo que alguns desses AG parecem poder apresentar benefícios para a saúde humana, pelo que existe atualmente interesse em produzir produtos animais naturalmente ricos nesses AG (Bauman et al., 2003). Assim, a digestão dos lípidos (Figura 2.3) em animais ruminantes apresenta um renovado interesse, uma vez que a quantidade total e as proporções dos diferentes AG presentes no leite e na carne destes animais podem ser modificadas por via da sua alimentação. Neste contexto, as bactérias ruminais apresentam um papel predominante, ao transformarem os lípidos fornecidos pela dieta e ao sintetizarem AG *de novo* a partir de outros constituintes dos alimentos (Sauvant and Bas, 2001) (Figura 2.3).

2.2.1 Lipólise ruminal

A lipólise ruminal dos lípidos da dieta é um passo fundamental para a libertação dos AG no meio ruminal e ocorre por hidrólise das ligações éster. Sem esta etapa não é possível a posterior bioidrogenação (BH) dos AG uma vez que ela só ocorre sobre AG com grupo carboxílico livre (Doreau et al., 2012). A lipólise ruminal é considerada uma etapa

Figura 2.3– Esquema genérico do metabolismo dos lípidos em animais ruminantes.

[ID – Intestino delgado; AGV – AG voláteis; OCFA – AG de cadeia ímpar; BCFA – AG de cadeia ramificada; SFA – AG saturados; MUFA – AG monoinsaturados; PUFA – AG polinsaturados; $\Delta 9D$ – enzima delta9-dessaturase]

rápida(ocorre, em média, em menos de 2 hora) e praticamente completa para os TAG, GL e FL (Buccioni et al., 2012). Esta hidrólise é realizada maioritariamente pelas lipases bacterianas (Bauman et al., 2003; Harfoot and Hazlewood, 1997), não existindo evidências de que os protozoários e os fungos ruminais tenham uma participação significativa (Jenkins and Wallace, 2008; Kim et al., 2009). Por fim, as lipases vegetais contribuem igualmente para a hidrólise dos GL e dos FL das forragens. Embora a amplitude deste fenómeno tenha sido durante muito tempo negligenciada, estudos *in vitro* demonstraram que as lipases vegetais participam de forma ativa na hidrólise dos lípidos das plantas herbáceas (Lee et al., 2004). Contudo, a contribuição relativa das lipases bacterianas e das lipases vegetais no global da lipólise ruminal dos lípidos das forragens ainda não é conhecida (Doreau et al., 2012).

São vários os fatores que têm sido identificados *in vitro* como influenciando a extensão da lipólise ruminal. A presença de antibióticos (van Nevel and Demeyer, 1995), dietas pobres em proteína (Gerson et al., 1983) ou um baixo pH ruminal (Van Nevel and Demeyer, 1996) bem como o aumento da quantidade de lípidos incluída na dieta, principalmente quando apresentam um elevado ponto de fusão (Beam et al., 2000) reduzem a lipólise ruminal. Chow et al. (2004) e Dohme et al. (2003), por exemplo, observaram *in vitro* que a lipólise de óleos marinhos diminui à medida que aumenta a quantidade de EPA e DHA no meio. Dietas ricas

em amido, pobres em fibra, resultam também numa diminuição da lipólise (Gerson et al., 1985) tendo este efeito sido associado ao baixo pH ruminal resultante do consumo daquele tipo de dietas (Sauvant et al., 1999).

2.2.2 Bioidrogenação ruminal

Após a libertação dos AG pela lipólise ruminal, apenas os AG insaturados sofrem uma hidrogenação pelos microrganismos do rúmen. A BH é atualmente considerada como uma via metabólica de defesa das bactérias contra os efeitos tóxicos dos UFA (Bessa et al., 2015; Maia et al., 2007). De facto, as propriedades anfipáticas dos UFA permitem-lhes atacar as paredes bacterianas pelo que a sua reação é saturar as ligações duplas C=C dos UFA, numa ou em várias etapas (Doreau et al., 2012). Deste modo, estudos *in vitro* mostraram que a BH permite que as bactérias ruminais sobrevivam ao efeito bacteriostático dos UFA e que o grau de toxicidade dos UFA varia com a espécie bacteriana. Neste contexto, as bactérias celulolíticas parecem particularmente vulneráveis aos efeitos dos UFA (Maia et al., 2010, 2007).

A BH é um processo extracelular que envolve os UFA da dieta e que ocorre em anaerobiose (Jouany, 1991; Troegeler-Meynadier and Enjalbert, 2005). As bactérias ruminais atuam em simbiose, produzindo uma série de intermediários da BH, uma vez que a maioria das espécies bacterianas isoladamente é, de facto, incapaz de realizar todas as etapas da BH por si só. Deste modo, Kemp and Lander (1984) classificaram as bactérias envolvidas na BH em dois grupos, A e B, em função do substrato que utilizam. O grupo A compreende bactérias capazes de bioidrogenar o 18:2n-6 e o 18:3n-3 a AG 18:1, sendo incapazes de realizar a posterior BH dos AG 18:1 (c9-18:1, c11-18:1, t9-18:1 e t11-18:1) a 18:0. O grupo B é constituído por bactérias que, por um lado, realizam a hidrogenação desses AG 18:1 a 18:0 e, por outro, a BH do 18:2 n-6 e 18:3n-3 a AG 18:1 (Kemp and Lander, 1984).

A microbiota ruminal consiste de uma população dinâmica de bactérias, fungos e protozoários sensíveis a alterações do substrato e do ambiente ruminal. Contudo, é relativamente consensual que as bactérias ruminais são as principais responsáveis pela atividade de BH ruminal (Shingfield and Wallace, 2014), existindo poucas evidências de que os protozoários estejam envolvidos na BH. No entanto, apesar de não terem uma participação ativa no processo de BH, os protozoários ruminais são uma importante fonte de AG para o hospedeiro, devido à predação das bactérias e consequente acumulação de t11-18:1 e c9,t11-18:2 (Devillard et al., 2006). Os fungos ruminais anaeróbios participam diretamente na BH ruminal, produzindo t11-18:2 a partir da BH do 18:2n-6 e do 18:3n-3 (Nam and Garnsworthy, 2007a). Contudo, a taxa de BH fúngica é significativamente mais baixa do que a das bactérias (Nam and Garnsworthy, 2007b).

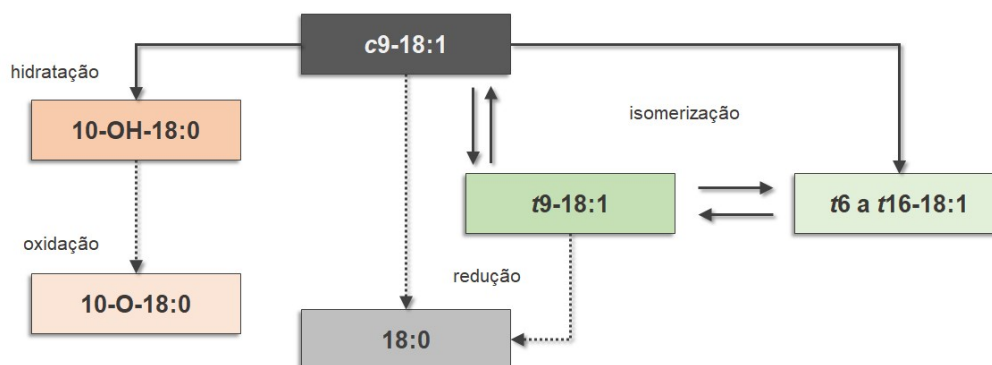
A BH dos UFA corresponde, assim, a um conjunto de reações bioquímicas que ocorrem no rúmen, envolvendo várias espécies e estirpes de bactérias e que transforma os AG insaturados da dieta em AG com um menor grau de insaturação. Estas reações, de isomerização e de hidrogenação das ligações duplas, ocorrem unicamente em AG que apresentam a função carboxílica livre, dando origem à formação de 18:0, como produto final, bem como diversos AG insaturados como intermediários (Doreau et al., 2012). A primeira etapa é uma isomerização que ocorre à superfície das partículas de alimento, sobre as quais a maior parte dos AG livres presentes no rúmen se encontram adsorvidos (Kepler et al., 1966). A BH ruminal, contudo, não é completa e varia em função das condições do meio (ver ponto 2.3 – Modulação da biohidrogenação ruminal) pelo que uma quantidade de intermediários, relativamente importante, escapa a uma saturação completa podendo posteriormente ser absorvida no intestino delgado (ver ponto 2.4.1 – Digestão e absorção intestinal dos lípidos).

2.2.2.1 Biohidrogenação ruminal do ácido oleico

Inicialmente considerava-se que a BH ruminal do c9-18:1 apenas resultava na produção de 18:0. Contudo, a isomerização *cis* → *trans* é comum entre as espécies bacterianas ruminais, permitindo-lhes alterar a permeabilidade das membranas celulares como forma de se protegerem de alterações do meio ruminal (Jenkins et al., 2009). Estudos *in vitro* mostraram que o c9-18:1 pode ser convertido numa série de isómeros *trans*, entre o t6-18:1 e o t16-18:1, incluindo o t11-18:1, o t10-18:1 e o ácido eláidico (t9-18:1) (Mosley et al., 2002; van de Vossenberg and Joblin, 2003). Deste modo, Jenkins et al. (2006) propuseram três vias alternativas à BH do c9-18:1 (Figura 2.4). De acordo com os autores anteriores o c9-18:1 pode ser biohidrogenado diretamente a 18:0 ou ser isomerizado (isomerização *cis* → *trans*) a múltiplos t-18:1 com ligações duplas entre os carbonos Δ6 a Δ16. Esta via de isomerização também inclui a possibilidade de uma isomerização inversa (isomerização *trans* → *cis*) que permite que algum do t9-18:1 seja de novo convertido a c9-18:1. Por fim, o c9-18:1 pode também ser hidratado a ácido 10-hidroxi-esteárico (10-OH-18:0), que sofrendo uma oxidação, poderá ser convertido a ácido 10-ceto-esteárico (10-O-18:0) (Jenkins et al., 2009, 2006) (Figura 2.4).

Os diferentes estudos mostram, assim, que a BH do ácido oleico pelos microrganismos ruminais resulta, por um lado, na produção maioritária de 18:0 (Mosley et al., 2002), um SFA, e por outro, na produção de numerosos MUFA de configuração *trans*. Estas transformações podem ser diretas ou passar por diferentes intermediários utilizando vias que ainda não estão bem esclarecidas. A taxa de BH do c9-18:1 varia entre 50 a 70% (Demeyer and Doreau, 1999; Doreau and Ferlay, 1994).

Figura 2.4– Esquema simplificado das principais vias de bioidrogenação ruminal do ácido oleico (c9-18:1).



[adaptado de Jenkins et al., 2009]

2.2.2.2 Bioidrogenação ruminal do ácido linoleico

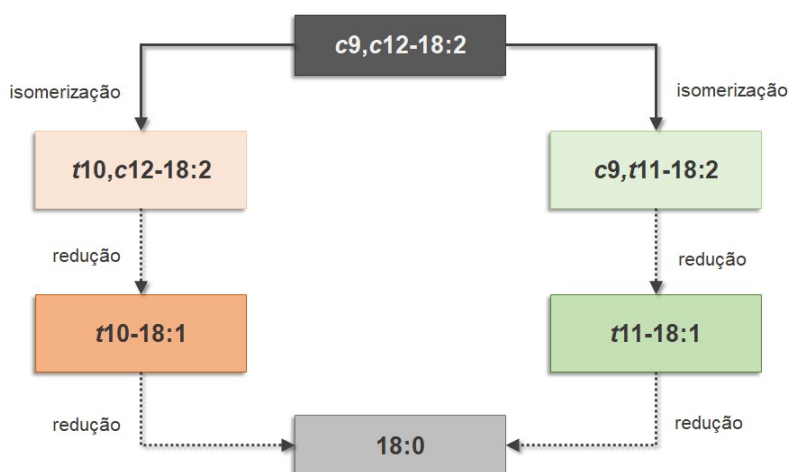
A BH ruminal do c9,c12-18:2 ocorre em três etapas sucessivas: uma isomerização seguida de duas reduções (Jenkins and Wallace, 2008). A isomerização modifica a posição e a geometria das ligações duplas do 18:2n-6, resultando na formação de isômeros de CLA, intermediários com uma ligação dupla com configuração *trans* (Jenkins et al., 2009). Sem esta etapa, a redução das ligações duplas em $\Delta 9$ e $\Delta 12$ não pode ter lugar (Kemp and Lander, 1984). Esta reação é principalmente realizada pelas bactérias ruminais fibrolíticas, podendo ser produzidos diversos isômeros de CLA em função das bactérias ruminais envolvidas.

A existência de diferentes isômeros de CLA explica-se pela reação de isomerização do c9,c12-18:2 e/ou dos seus isômeros geométricos, catalisada por numerosas isomerases específicas associadas à migração das ligações duplas. Frequentemente, o principal isômero de CLA produzido é o c9,t11-18:2, comumente designado por ácido ruménico (Kepler et al., 1966) (Figura 2.5). Contudo, em determinadas condições (dietas ricas em PUFA e baixo pH ruminal, associadas com modificações na população microbiana ruminal) uma via alternativa da BH ruminal leva à produção de um outro isômero de CLA, o t10,c12-18:2, que após redução leva à acumulação de t10-18:1 (Griinari and Bauman, 1999; Jenkins et al., 2009). Esta alteração da via de BH ruminal é conhecida pelo *shift trans-10* (Aldai et al., 2013; Bessa et al., 2015) (ver ponto 2.3.3.1 – *Shift trans-10* das vias de bioidrogenação ruminal).

A segunda etapa consiste de uma primeira redução que afeta maioritariamente a dupla ligação de configuração *cis*. Nesta etapa, os CLA são hidrogenados em diferentes isômeros t-18:1 por uma redutase microbiana. Assim, o c9,t11-18:2 é principalmente reduzido a t11-18:1 e o t10,c12-18:2 a t10-18:1 (Griinari and Bauman, 1999). A última etapa é a

redução da ligação dupla restante, pelo que os *t*-18:1 são hidrogenados produzindo 18:0 como produto final (Harfoot and Hazlewood, 1997). Esta reação é mais lenta do que as anteriores, que ocorrem rapidamente, uma vez que apenas as bactérias do grupo B a realizam. A segunda redutase que efetua esta reação é rapidamente saturada, explicando a acumulação de isómeros *t*-18:1, pelo que é considerada a etapa limitante da BH do 18:2n-6 (Troegeler-Meynadier and Enjalbert, 2005). É também de salientar que a velocidade de hidrogenação dos diferentes isómeros *t*-18:1 não é igual: os isómeros *t*8- a *t*10-18:1 são mais rapidamente hidrogenados que os isómeros *t*5- a *t*7-18:1 e *t*11- a *t*13-18:1, pelo que o *t*11-18:1 tem tendência a acumular-se mais rapidamente do que o isómero *t*10-18:1 (Griinari and Bauman, 1999; Troegeler-Meynadier and Enjalbert, 2005).

Figura 2.5– Esquema simplificado das principais vias de bioidrogenação ruminal do ácido linoleico (c9,c12-18:2).



[adaptado de Alves and Bessa, 2014; Griinari and Bauman, 1999; Kramer et al., 2004]

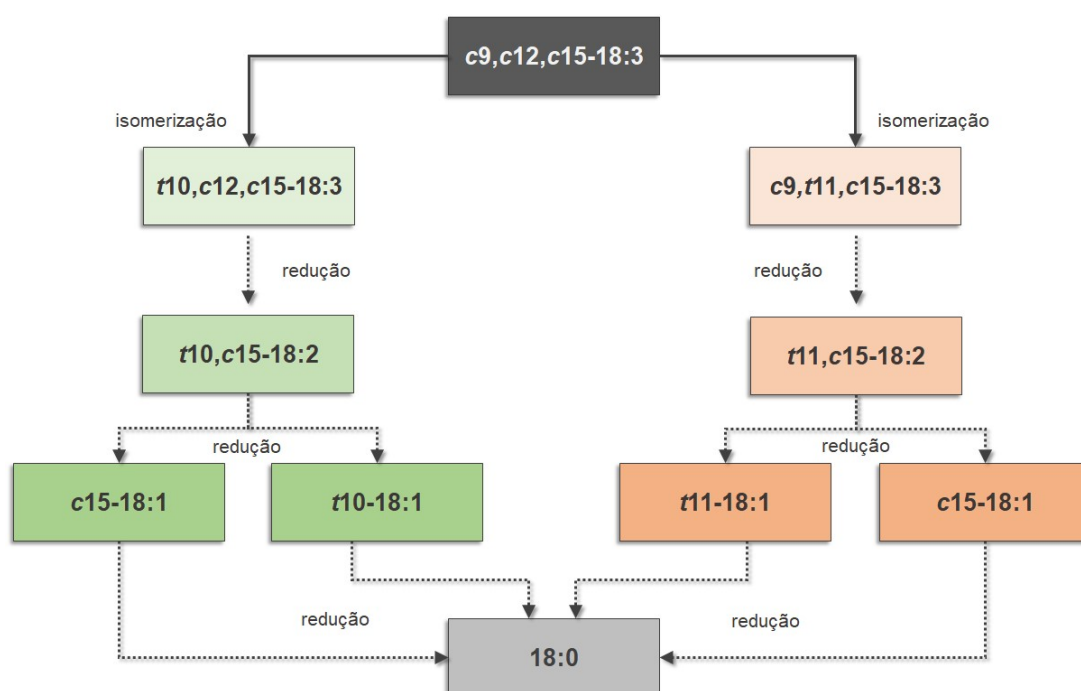
2.2.2.3 Bioidrogenação ruminal do ácido linolénico

O c9,c12,c15-18:3 é o PUFA que predomina nos regimes alimentares de ruminantes à base de forragens, como vimos anteriormente. A BH ruminal do 18:3n-3 decorre em 4 etapas sucessivas: uma isomerização seguida de três reduções (Figura 2.6). A taxa de BH ruminal do 18:3n-3 é, em média, de 93% (Doreau and Ferlay, 1994) podendo variar entre 85 e 100% (Jenkins and Wallace, 2008).

A reação inicial é uma isomerização da ligação dupla *cis*-12 levando à formação de um intermediário conjugado de ácido linolénico, o c9,t11,c15-18:3 (Kemp and Dawson, 1968). De seguida, o c9,t11,c15-18:3 sofre uma hidrogenação da ligação dupla *cis*-9, permitindo a formação de t11,c15-18:2. Uma hidrogenação suplementar, com uma eventual isomerização, dá lugar a MUFA, maioritariamente t11-18:1 mas também t15-18:1 ou

c15-18:1 (Harfoot and Hazlewood, 1997). O isômero *t*11-18:1 pode, de seguida, ser hidrogenado formando 18:0. Foi também proposta (Griinari and Bauman, 1999) uma via alternativa para a BH do 18:3n-3 (Figura 2.6) que, em determinadas condições alimentares, nomeadamente com dietas ricas em amido, resulta na acumulação de *t*10-18:1 (*shiftrans*-10). Recentemente, Alves and Bessa (2014) identificaram no rúmen, na digesta abomasal e na carne de animais alimentados com dietas à base de alimento concentrado suplementadas com óleos vegetais ricos em 18:3n-3 um dos intermediários resultante da via *trans*-10 proposto por Griinari and Bauman (1999), o *t*10,c15-18:2.

Figura 2.6– Esquema simplificado das principais vias de bioidrogenação ruminal do ácido linolénico (c9,c12,c15-18:3).



[adaptado de Alves and Bessa (2014); Griinari and Bauman(1999); Kramer et al. (2004)]

O metabolismo ruminal dos AG insaturados não se limita, contudo, às vias descritas anteriormente sendo bastante mais complexo. De facto, os progressos conseguidos na análise dos AG permitiram evidenciar numerosos isómeros 18:1, 18:2 e 18:3 (Tabela 2.3) produzidos ao longo da BH ruminal e presentes nos conteúdos do rúmen e do abomaso. Todavia, nem todas as vias bioquímicas envolvidas são conhecidas. Diversos isómeros *cis* e *trans* dos AG 18:1 e diferentes isómeros de CLA foram identificadas há muito e a melhoria das técnicas de análise tem permitido colocar em evidência um grande número de novos isómeros (Kramer et al., 2004; Shingfield and Wallace, 2014).

2.2.3 Hidroxilação ruminal de ácidos gordos

Ao contrário da BH ruminal, que tem ao longo das últimas décadas sido alvo de grande

Tabela 2.3– Resumo dos intermediários formados durante a bioidrogenação ruminal do ácido oleico, ácido linoleico e ácido linolênico.

| isômeros 18:1 | isômeros 18:2 | | isômeros 18:3 | outros |
|-----------------|----------------|--------------|------------------|---------------|
| | não conjugados | conjugados | | |
| t2-18:1 | c6,c12-18:2 | t6,c8-18:2 | c9,t11,t13-18:3 | 10-OH-18:0 |
| t4-18:1 | c7,c12-18:2 | t6,t8-18:2 | c9,c11,c15-18:3 | 13-OH-18:0 |
| t5-18:1 | c8,c12-18:2 | c7,c9-18:2 | c9,t11,c15-18:3 | 10-OH-18:1 |
| t6+ t7+ t8-18:1 | t8,c12-18:2 | c7,t9-18:2 | c9,t11,t15-18:3 | c9-13-OH-18:1 |
| t9-18:1 | t8,c13-18:2 | t7,c9-18:2 | t9,t11,c15-18:3 | 10-O-18:0 |
| t10-18:1 | c9,c12-18:2 | t7,t9-18:2 | c9,t12,c15-18:3 | 13-O-18:0 |
| t11-18:1 | c9,t12-18:2 | c8,c10-18:2 | c9,t12,t15-18:3 | 16-O-18:0 |
| t12-18:1 | t9,c12-18:2 | c8,t10-18:2 | t9,t12,t15-18:3 | |
| t13+t14-18:1 | t9,t12-18:2 | t8,c10-18:2 | c9,c13,c15-18:3 | |
| t15-18:1 | c9,t13-18:2 | t8,t10-18:2 | c9,t13,c15-18:3 | |
| c9-18:1 | c9,c15-18:2 | c9,c11-18:2 | t10,c12,c15-18:3 | |
| c10-18:1 | t10,c15-18:2 | c9,t11-18:2 | | |
| c11-18:1 | t11,t14-18:2 | t9,c11-18:2 | | |
| c12-18:1 | c11,c15-18:2 | t9,t11-18:2 | | |
| c13-18:1 | t11,c15-18:2 | c10,c12-18:2 | | |
| c14+t16-18:1 | t11,t15-18:2 | c10,t12-18:2 | | |
| c15-18:1 | c12,c15-18:2 | t10,c12-18:2 | | |
| c16-18:1 | t12,c15-18:2 | t10,t12-18:2 | | |
| | | c11c13-18:2 | | |
| | | c11,t13-18:2 | | |
| | | t11,c13-18:2 | | |
| | | t11,t13-18:2 | | |
| | | c12,c14-18:2 | | |
| | | c12,t14-18:2 | | |
| | | t12,t14-18:2 | | |
| | | t12,c14-18:2 | | |
| | | c13,t15-18:2 | | |
| | | t13,c15-18:2 | | |
| | | t13,t15-18:2 | | |

[Alves and Bessa, 2014; Bauman et al., 2003; Jenkins and Wallace, 2008; Kramer et al., 2004; Maia, 2010; Shingfield et al., 2010; Shingfield and Wallace, 2014]

investigação, outras transformações dos lípidos estão menos bem documentadas, como é o caso da hidroxilação, por vezes também designada na bibliografia por hidratação, e da saponificação dos AG (ponto 2.2.4 – Saponificação dos ácidos gordos no rúmen). Todavia, foram isoladas estirpes bacterianas ruminais (*Enterococcus faecalis*, *E. gallinarum*, *Pediococcus acidilactici* e *Selenomonas ruminantium*) capazes de converter o ácido oleico (c9-18:1) a ácido 10-hidroxi-esteárico (Hudson et al., 2000, 1996a, 1996b; Morvan and Joblin, 1999) e foi mostrado também ser possível que o *E. faecalis* seja capaz de produzir ácido 10-hidroxi-12-octadecenóico e ácido 13-hidroxi-9-octadecenóico por hidroxilação do ácido linoleico (Hudson et al., 1998). Para além disso, uma variedade de géneros anaeróbios facultativos presentes no rúmen (*Lactobacillus*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*) são capazes de hidroxilar o ácido oleico (Hudson et al., 2000).

Contudo, o papel da hidroxilação de AG no rúmen ainda não está completamente esclarecido parecendo, porém, que as bactérias ácido lácticas serão as principais responsáveis pela hidroxilação dos AG, que poderá representar uma via alternativa à BH ruminal em dietas à base de alimento concentrado ricas em amido (Bessa et al., 2015; Shingfield and Wallace, 2014). A formação destes AG pode ter implicações na saúde humana, tendo já sido evidenciadas algumas propriedades benéficas (Jenkins et al., 2006). Os efeitos biológicos e fisiológicos dos ácidos hidroxi-octadecanóicos têm sido investigados e incluem potentes efeitos citotóxicos em melanomas humanos e inibição da proliferação e viabilidade celular (Jenkins et al., 2006).

2.2.4 Saponificação dos ácidos gordos no rúmen

A recente literatura sobre o metabolismo dos lípidos no rúmen praticamente não fala sobre as reações dos AG com os catiões bivalentes (Mg^{2+} e Ca^{2+}) que resultam na formação de sabões. Contudo, a saponificação dos AG no rúmen parece desempenhar um papel importante no metabolismo lipídico ruminal, permitindo incluir suplementos lipídicos nas dietas dos ruminantes com menor perturbação do ecossistema ruminal (Jenkins and Palmquist, 1982). Em resultado do processo de hidrólise dos lípidos ao nível do rúmen, os AG na forma livre ficam disponíveis para formar sabões com catiões bivalentes (Mg^{2+} e Ca^{2+}) presentes no meio.

A saponificação constitui um processo meramente físico-químico, sem participação da microbiota ruminal. No rúmen, os sabões formados são insolúveis e precipitam, reduzindo, deste modo, o efeito depressor dos AG sobre a atividade microbiana ruminal e permitindo a normal digestão do alimento. Estes sabões dissociam-se posteriormente no abomaso, devido à diminuição do pH, ficando os AG disponíveis para absorção. A dissociação destes sabões no rúmen, no entanto, varia com o pH do meio, sendo máxima a pH 5,0 e mínima a

pH 6,5 (Sukhija and Palmquist, 1990). Para além do pH ruminal, o perfil de AG dos sabões de cálcio também influencia a sua dissociação. A formação de sabões depende também do catião envolvido ($\text{Ca} > \text{Mg}$; cloreto de cálcio $>$ fosfato bicálcico), aumenta com o comprimento da cadeia do AG ($\text{C18} > \text{C16} > \text{C14}$) e diminui com o aumento do grau de insaturação do AG ($18:0 > 18:1 > 18:2$), pelo que os sabões ricos em AG insaturados se dissociam mais facilmente no rúmen a pH comuns (Jenkins and Palmquist, 1982; Palmquist et al., 1986; Sukhija and Palmquist, 1990).

2.2.5 Síntese microbiana

Para além dos AG contidos nos lípidos da dieta, a composição em AG disponível no intestino delgado para absorção é também determinada pela composição lipídica dos microrganismos do rúmen (Bauman et al., 2003). Nos ovinos, por exemplo, os lípidos das bactérias e dos protozoários representam entre 10 a 20% dos lípidos totais presentes no rúmen (Harfoot and Hazlewood, 1997). Os lípidos bacterianos podem ter uma origem exógena, por absorção de AG de cadeia longa da dieta, e endógena, por síntese *de novo*. A contribuição de cada uma delas depende do teor em lípidos da dieta e das espécies bacterianas presentes. Assim, o aumento da concentração em lípidos da dieta normalmente resulta num aumento da absorção exógena, com formação de gotículas lipídicas citoplasmáticas, numa estratégia de menor custo energético (Doreau and Ferlay, 1994; Jenkins, 1993). No que se refere aos AG sintetizados *de novo*, eles consistem maioritariamente de 18:0 e 16:0 numa proporção aproximada de 2:1.

Os AG formados por síntese *de novo* dependem, contudo, do substrato que é utilizado para a sua formação. Quando o acetato e a glucose são utilizados formam-se AG de cadeia linear com um número par de carbonos. Quando o propionato ou o valerato são utilizados produzem-se AG de cadeia linear com um número ímpar de carbonos (OCFA, por exemplo, 15:0 e 17:0). A formação de AG de cadeia ramificada (BCFA, da série iso e anteiso) deve-se à utilização de i-butirato, i-valerato ou 2-metil-butirato como precursores na síntese *de novo* de AG (Jenkins, 1994, 1993).

Como referimos anteriormente, a origem dos AG presentes nos microrganismos ruminais depende também da espécie microbiana. Numa classificação simplificada (Bauchart et al., 1990) as bactérias ruminais podem ser divididas em 3 grupos: as que se encontram na fase líquida (identificadas como LAB), as fortemente ligadas às partículas de alimento (identificadas como SAB₂) e as que estando ligadas à fração sólida facilmente se desprendem (identificadas como SAB₁). Bessa et al. (2009) encontraram diferenças marcadas na composição em AG entre a fração LAB e SAB (SAB₁ + SAB₂) consistentes com trabalhos anteriores (Bauchart et al., 1990; Kim et al., 2005; Vlaeminck et al., 2006b).

As bactérias LAB apresentavam uma menor concentração em AG e uma maior proporção em OBCFA, comparativamente à fração SAB que, por seu lado, apresentava uma maior proporção de C18 derivados da BH dos AG no rúmen (18:0 e especialmente *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2). Bessa et al. (2009) verificaram também que a fração SAB₁, comparativamente à fração SAB₂, apresentava uma maior proporção de OCFA e de alguns AG de cadeia ramificada (*i*-14:0, *i*-16:0 e *a*-17:0). O rácio BCFA:OCFA observado foi igual nas duas frações. Para além disso, as SAB₂ apresentavam também uma maior proporção de *t*11-18:1, *c*9,*t*11-18:2 e, particularmente, de 18:2 n -6 e 18:3 n -3 do que a fração SAB₁. Deste modo, as grandes diferenças observadas no perfil de OBCFA (OCFA+BCFA) entre as distintas frações bacterianas ruminais sugerem que estes AG possam ser úteis no conhecimento da composição da população microbiana ruminal ou das alterações que possa sofrer em função das condições do meio (Bessa et al., 2009; Fievez et al., 2012; Vlaeminck et al., 2006b).

2.3 Modulação da biohidrogenação ruminal

Os produtos dos ruminantes caracterizam-se por serem ricos em SFA devido à ação dos microrganismos do rúmen que convertem, de forma extensa, os UFA da dieta em AG com maior grau de saturação através do processo de lipólise e de BH ruminal (Aldai et al., 2013; Bessa et al., 2000). Neste contexto, existe um considerável interesse em alterar a composição em AG dos produtos dos ruminantes com o objetivo de contribuir para melhorar a saúde dos consumidores a longo prazo (Mapiye et al., 2012a). Assim, são considerados objetivos importantes a redução da quantidade de SFA e o aumento de PUFA e *c*9-18:1, importantes para a redução das doenças cardiovasculares, bem como o aumento das concentrações de *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2, pelas propriedades anti-carcinogénicas que têm demonstrado em culturas de células e em modelos animais (Aldai et al., 2013; Combe et al., 2007; Crumb, 2011; Lawrence, 2013; Salter, 2013).

A modificação do perfil de AG da gordura intramuscular em animais ruminantes, de acordo com as atuais recomendações nutricionais para humanos, foi revista nos últimos anos por diversos autores (Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015, 2012a; Palmquist et al., 2005; Scollan et al., 2014; Shingfield and Wallace, 2014; Vahmani et al., 2015), podendo o teor e composição em AG ser modificado pela dieta e também pela genética (De Smet et al., 2004; Scollan et al., 2001a; Shingfield et al., 2013). Porém, a dieta é considerada mais importante uma vez que permite uma atuação direta e rápida sobre a microbiota ruminal e consequentemente sobre as vias metabólicas da BH ruminal.

2.3.1 Objetivos da modulação da bioidrogenação ruminal - inibir totalmente ou inibir parcialmente?

Em resultado da digestão ruminal, os lípidos que ficam disponíveis no intestino delgado para absorção são predominantemente AG livres (85-90%) e maioritariamente saturados (80-90%) (Doreau and Chilliard, 1997; Lock et al., 2006). Deste modo, o principal AG disponível para absorção intestinal nos animais ruminantes é o 18:0. A melhoria do perfil de AG da carne de animais ruminantes encontra-se, assim, condicionada pela digestão ruminal dos lípidos que altera de forma marcada o perfil de AG disponíveis para absorção comparativamente ao perfil de AG da dieta original. Contudo, existem numerosos fatores capazes de influenciar a BH ruminal e consequentemente o teor e o perfil de AG depositados nos tecidos dos animais ruminantes (Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015, 2012a; Palmquist et al., 2005; Scollan et al., 2014; Shingfield and Wallace, 2014; Vahmani et al., 2015).

A BH ruminal apresenta duas dimensões que designaremos por extensão (por vezes também definida como taxa de BH ruminal) e por completude da BH ruminal. Por extensão da BH ruminal de um determinado AG entendesse o grau de desaparecimento desse mesmo AG entre a quantidade ingerida pelo animal e o seu fluxo duodenal (Fievez et al., 2007). O fluxo duodenal é considerado como o resultado do metabolismo ruminal uma vez que se assume que não ocorre digestão nem absorção de AG no omaso e no abomaso (Bauman et al., 2003).

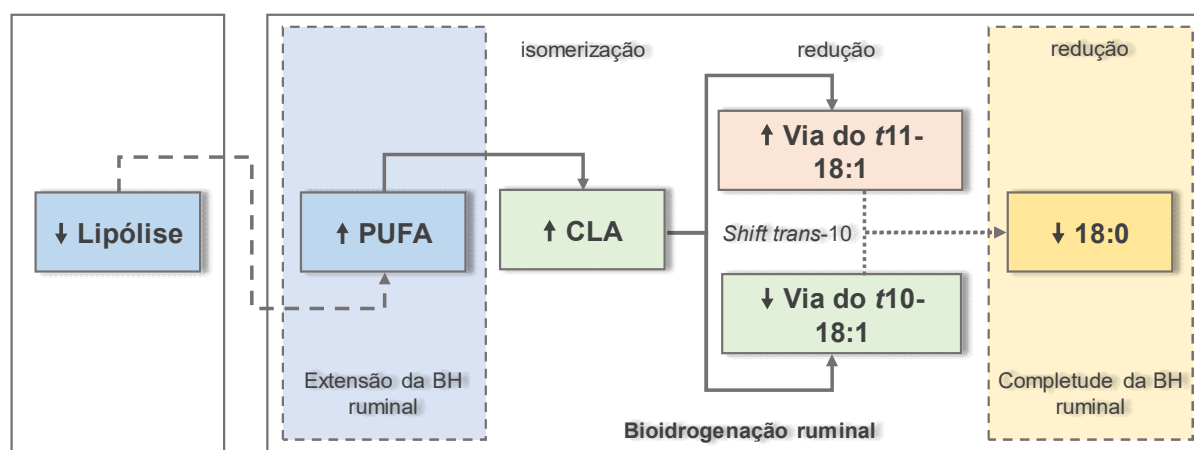
Na maioria das dietas, a extensão da BH ruminal do c9-18:1, 18:2n-6 e do 18:3n-3 varia entre 58 a 87%, 70 a 95% e 85 a 100%, respetivamente (Glasser et al., 2008; Shingfield et al., 2010), pelo que apenas uma reduzida fração do total de C18 UFA da dieta escapa inalterado, ficando disponível para a absorção e posterior deposição nos tecidos dos ruminantes.

O perfil de AG da carne de animais ruminantes, comparativamente à dos monogástricos, apresenta uma grande complexidade. De facto, para além do produto final da BH ruminal, o 18:0, os microrganismos do rúmen são também responsáveis pela produção de vários intermediários da BH que incluem trienos e dienos conjugados, dienos não conjugados e diversos MUFA com ligações duplas em diferentes posições, de configuração *cis* ou *trans* (Bessa et al., 2015; Dugan et al., 2011; Vahmani et al., 2015). Esta complexidade do perfil lipídico da carne dos ruminantes resulta da outra dimensão da BH ruminal, a completude, ou seja, depende da proporção de C18 UFA da dieta que é bioidrogenado de forma completa até 18:0.

O fluxo ruminal de AG depende da eficiência de todas as reações envolvidas na digestão ruminal dos lípidos, sendo condicionada pelos fatores nutricionais da dieta que podem afetar de forma distinta as duas dimensões da BH, a extensão e a completude da BH ruminal

(Doreau et al., 2016; Mapiye et al., 2015). Assim, para além das estratégias mais clássicas que visam aumentar o teor de PUFA presente nos lípidos dos ruminantes, em particular os n-3 PUFA, procurando inibir a lipólise e os passos iniciais da BH ruminal (*i.e.*, diminuir a extensão da BH ruminal), surgem novas estratégias (Figura 2.7) que visam aumentar o teor em *c9,t11-18:2* e *t11-18:1*, presentes nos lípidos dos ruminantes procuram inibir o último passo da BH ruminal (*t-18:1* → *18:0*), sem limitar a conversão do *18:2n-6* e do *18:3n-3* a *c9,t11-18:2* e *t11-18:1* (*i.e.*, diminuir a completude da BH ruminal) (Bessa et al., 2015, 2000; Lourenço et al., 2010). Contudo, uma vez que não é possível aumentar a produção de *c9,t11-18:2* nos tecidos diminuindo a produção ruminal de *t11-18:1* (Bessa et al., 2015; Dugan et al., 2011; Shingfield and Wallace, 2014) importa também procurar estratégias que permitam prevenir a BH dos AG C18 pela via alternativa, que resulta na produção de *t10-18:1* em vez do desejável *t11-18:1*, ou seja, importa prevenir o *shiftrans-10* das vias de BH ruminal (Figura 2.7).

Figura 2.7– Esquema simplificado dos objetivos da modulação da bioidrogenação ruminal com vista à melhoria do perfil lipídico dos produtos dos ruminantes.



2.3.2 Fatores que afetam a extensão da bioidrogenação ruminal

Uma vez que os AG disponíveis para o metabolismo ao nível dos tecidos são os que resultam do processo de digestão ruminal, aumentar o teor em PUFA nos produtos dos ruminantes implica aumentar o teor de PUFA no total de AG do duodeno. Isso pode ser realizado aumentando o teor em PUFA da dieta, fornecendo dietas ricas em forragem ou suplementando as dietas com fontes de PUFA, ou aumentando a proporção de PUFA da dieta que escapa à BH ruminal, ou seja diminuindo a extensão da BH ruminal (Doreau et al., 2016).

A alimentação com dietas à base de forragem está normalmente associada com uma melhoria no perfil de AG dos produtos dos ruminantes uma vez que, de um modo geral, os

lípidos das forragens são naturalmente ricos em PUFA, nomeadamente em n-3 PUFA (Dewhurst et al., 2006; Lourenço et al., 2008). Santos-Silva et al. (2002a), por exemplo, verificaram que a carne de borregos alimentados com pastagem apresentava proporções cerca de 3 vezes mais elevadas de 18:3n-3 comparativamente a animais alimentados com dietas à base de alimento concentrado, sendo esta diferença, segundo Aurousseau et al. (2004), muito mais evidente nos lípidos polares. Esta tendência foi recentemente confirmada na meta-análise realizada por Popova et al. (2015) onde os autores concluem que a alimentação de borregos com base em pastagens resulta numa carne mais magra, com uma maior proporção de n-3 PUFA e com um menor rácio n-6:n-3, sugerindo que este tipo de alimentação contribui para a melhoria da qualidade dietética dos lípidos depositados na carne. Contudo, a transferência dos n-3 PUFA das forragens para os produtos animais é variável dependendo de fatores como a espécie forrageira, variedade, método de conservação (fenação ou ensilagem), nível de inclusão na dieta e estado fenológico, que podem afetar de forma distinta não só o teor de PUFA presente no alimento mas também a cinética da digestão ruminal, o processo de lipólise ou a população bacteriana capaz de bioidrogenar os AG (Dewhurst et al., 2006).

A presença de determinadas espécies botânicas podem também influenciar o metabolismo ruminal (Wallace, 2004). No que se refere à extensão da BH ruminal é de destacar o trevo violeta (*Trifolium pratense*). Estudos *in vitro* e *in vivo* têm mostrado que as polifenol oxidases (PPO) presentes no trevo violeta reduzem a extensão da BH ruminal dos PUFA e que a extensão da lipólise também é menor comparativamente a outras forragens (Lee, 2014; Lee et al., 2004; Loo et al., 2003; Van Ranst et al., 2011). Inicialmente foi proposto que a lipólise poderia ser reduzida pela ligação entre as quinonas (produzidas por oxidação dos compostos fenólicos presentes na planta pelas PPO) e as lipases vegetais (Lee et al., 2007, 2004). Mais recentemente, os trabalhos de Lee et al. (2010), utilizando microscopia eletrónica, sugerem que o mecanismo que mais provavelmente justifica a menor lipólise dos lípidos das membranas do trevo violeta estará relacionado com o encapsulamento dos lípidos num complexo proteína-fenol. Isto significa que a lipólise é reduzida porque os lípidos das membranas não estão disponíveis para as lipases, quer de origem vegetal quer de origem microbiana (Lee et al., 2010; Van Ranst et al., 2011). Deste modo, a substituição de silagem de erva por silagem de trevo violeta diminui a lipólise ruminal em vacas leiteiras assim como a extensão da BH ruminal dos PUFA, em particular do 18:3n-3 da dieta (Halmemies-Beauchet-Filleau et al., 2014).

É também possível que os taninos, presentes em algumas plantas utilizadas na alimentação de animais ruminantes, possam inibir o processo de lipólise (Lourenço et al., 2010) que representa uma pré-condição para a posterior BH dos AG (Doreau and Ferlay, 1994). Foi observado que os taninos reduzem a extensão da BH dos PUFA, permitindo aumentar a

transferência de 18:3n-3 do alimento para o leite de vaca (vários citados por Morales and Ungerfeld, 2015) e para a carne de borrego (por exemplo, Priolo et al., 2005; Vasta et al., 2009; Willems et al., 2014) pelo que apresentam também potencial para alterar a composição em AG dos produtos dos ruminantes.

Uma das estratégias para aumentar a quantidade de PUFA da carne de animais ruminantes tem sido através da inclusão de suplementos ricos em PUFA nas dietas. As principais fontes suplementares de PUFA nas dietas de ruminantes são óleos e sementes de oleaginosas, óleos de peixe e algas marinhas. Contudo, estas estratégias não estão isentas de dificuldades devido à elevada eficiência da BH ruminal dos PUFA e à influência negativa sobre a digestão ruminal quando as suplementações são superiores a 60 g/kg de MS (Scollan et al., 2006; Shingfield et al., 2013). No entanto, apesar da extensa BH ruminal, uma parte dos PUFA da dieta passam inalterados pelo rúmen, sendo absorvidos e posteriormente depositados nos tecidos (Wood and Enser, 1997). Assim, a suplementação com sementes ou óleo de linhaça (rico em 18:3n-3) resulta num aumento da concentração de 18:3n-3 nos tecidos com consequente diminuição do rácio n-6:n-3 (Jerónimo et al., 2009; Juárez et al., 2011; Mapiye et al., 2013a; Scollan et al., 2001a). De modo semelhante, a suplementação com sementes ou óleo de girassol (rico em 18:2n-6) aumenta a proporção de 18:2n-6 nos tecidos mas com um indesejável aumento do rácio n-6:n-3 (Jerónimo et al., 2009; Mapiye et al., 2013a; Noci et al., 2005). A inclusão de suplementos lipídicos ricos em 18:3n-3 nas dietas geralmente resulta também num aumento da concentração de EPA mas nem sempre de DHA nos tecidos (Bessa et al., 2007; Nassu et al., 2011; Noci et al., 2007a; Scollan et al., 2001a; Shingfield et al., 2013; Sinclair, 2007; Turner et al., 2012).

O potencial dos óleos de peixe e das microalgas no aumento das concentrações de n-3 LC-PUFA (EPA e DHA) foi demonstrado em bovinos e ovinos, estando o aumento dependente do seu nível de inclusão na dieta (Noci et al., 2007b; Scollan et al., 2006, 2001b; Sinclair, 2007; Woods and Fearon, 2009).

Contudo, as estratégias de suplementação lipídica descritas anteriormente, embora possam alterar de forma significativa o rácio n-6:n-3, normalmente não resultam em rácios P:S na carne superiores a 0,1-0,15 (Scollan et al., 2014, 2001a; Shingfield et al., 2013). Este facto tem estimulado a procura de formas de proteger os PUFA da dieta em relação à BH ruminal, quer através da utilização de sementes de oleaginosas inteiras quer através do processamento e da utilização de tratamentos químicos (Jenkins and Bridges, 2007).

Idealmente, a tecnologia de proteção utilizada deve permitir, de acordo com Jenkins and Bridges (2007), 1) uma melhoria consistente e previsível do fluxo de UFA para o duodeno, 2) uma adequada libertação e absorção dos UFA no intestino, 3) com efeitos adversos mínimos sobre a fermentação ruminal. A técnica que se tem mostrado mais efetiva na proteção dos lípidos contra o ataque microbiano, apresentando aumentos significativos nos

PUFA que abandonam rúmen, resulta da encapsulação dos lípidos numa matriz proteica tratada com formaldeído (Kronberg et al., 2012; Sterk et al., 2010). A ligação química entre a matriz proteica e o formaldeído é quebrada no abomaso, devido ao baixo pH, permitindo que os aminoácidos e os AG possam ser absorvidos no intestino delgado.

A apresentação sob a forma de sabões de cálcio constitui outra técnica de proteção de lípidos. Os sabões de cálcio ou sais de cálcio de AG são sabões insolúveis produzidos por reação do grupo carboxílico do AG com os catiões bivalentes (Mg^{2+} e, mais frequentemente, Ca^{2+}). Os sabões de cálcio podem ser produzidos a partir de diversas gorduras e óleos (sebo, óleo de palma, de algodão, de milho, de soja e de colza) sendo que a dissociação e a digestibilidade dos sabões de cálcio, no rúmen e no total do aparelho digestivo, varia com o grau de saturação do AG e com o pH do meio (Sukhija and Palmquist, 1990).

A pH ruminais normais, cerca de 60 a 90% dos sabões de cálcio permanecem intactos, abandonado o rúmen inalterados. Contudo, à medida que o pH ruminal diminui, situação que ocorre nas horas seguintes à ingestão, maior é a taxa de dissociação dos sabões de cálcio (Ferlay et al., 1993). Os AG que se dissociam dos sabões de cálcio podem ser hidrogenados e interferir com o normal funcionamento do rúmen. O grau de insolubilidade dos sabões de cálcio depende também do tipo de AG uma vez que os sais de cálcio de AG insaturados tendem a dissociar-se a pH mais elevados comparativamente aos de AG com maior grau de saturação (Sukhija and Palmquist, 1990).

Embora inicialmente, os sabões de cálcio tenham sido utilizados como forma de aumentar a quantidade de gordura adicionada a dietas de vacas leiteiras, minimizando o efeito negativo da suplementação das dietas sobre a digestão ruminal, verificou-se que a sua utilização permitia diminuir a extensão da BH ruminal aumentando assim a quantidade de AG não modificados disponíveis para absorção no intestino delgado (Huang et al., 2009; Theurer et al., 2009; Zinn et al., 2000). A alimentação com sais de cálcio de CLA, por exemplo, permitiu aumentar o teor em CLA (c9,t11-18:2) nos tecidos de ovinos (Wynn et al., 2006) e de bovinos (Gillis et al., 2007, 2004).

Neste contexto, foi também tentada a utilização de argilas minerais como adsorventes de óleos, devido à sua elevada capacidade de troca catiónica e de adsorção, de modo a reduzir o impacto negativo da suplementação das dietas de animais ruminantes com lípidos (Jenkins and Palmquist, 1984; Tamminga et al., 1983)³. Mais recentemente, Sinclair et al. (2005) observaram, ao utilizar vermiculite como adsorvente de óleo de linhaça, uma

³– As argilas minerais, nomeadamente a bentonite e a vermiculite, apresentam uma média a elevada capacidade de troca catiónica e uma elevada área superficial, características que são responsáveis pela sua elevada capacidade de adsorção e média a elevada capacidade de expansão. A bentonite tem sido extensamente utilizada com agente aglomerante, de modo a melhorar a qualidade dos alimentos compostos granulados, tendo sido também testada a sua utilização como agente tampão de modo a mitigar a acidose ruminal e o síndrome da depressão da gordura do leite em bovinos (Bringe and Schultz, 1969; Rindsig et al., 1969). A vermiculite tem sido usada como transportador de gorduras, como forma de reduzir o impacto negativo dos suplementos lipídicos na digestão ruminal (Jenkins and Palmquist, 1984; Tamminga et al., 1983).

proteção parcial em relação à BH ruminal. Pensa-se que os efeitos das argilas na proteção dos PUFA em relação à BH ruminal possam ser devidos a uma mais lenta libertação dos TAG ou à saponificação dos PUFA com os iões Mg, libertados devido à elevada capacidade de troca iónica. Num trabalho de Jerónimo, Alves, Martins, et al. (2010) a inclusão de uma outra argila mineral, a bentonite, em dietas para borregos ricos em forragem e suplementadas com óleo vegetal, resultou numa redução significativa do $t_{10-18:1}$ na carne de borrego.

Embora os sabões de cálcio tenham a vantagem de causarem uma menor perturbação no metabolismo microbiano ruminal (Jenkins and Palmquist, 1982), uma vez que a extensão da BH depende do grau de insaturação dos PUFA e do pH ruminal, fatores que afetam igualmente a dissociação dos sabões de cálcio (Jenkins and Palmquist, 1982; Sukhija and Palmquist, 1990; Van Nevel and Demeyer, 1996), a saponificação tem-se mostrado relativamente ineficaz como forma de proteger os PUFA do processo de BH ruminal (Jenkins and Bridges, 2007), com resultados *in vivo* que variam entre 0 e 40% de proteção (Fievez et al., 2007).

A utilização de amidas de AG (Lundy et al., 2004) também tem sido tentada como forma de proteger os PUFA da BH ruminal embora os resultados obtidos sejam pouco consistentes (Jenkins and Bridges, 2007).

Todavia, os resultados conseguidos com estas técnicas de proteção podem ser limitados uma vez que dependem da tecnologia utilizada e do efeito da mastigação durante o consumo pelos animais. Para além disso, muitas destas tecnologias de proteção de lípidos são dispendiosas e podem resultar na acumulação de resíduos nos produtos animais, pelo que os consumidores, cada vez mais conscientes do impacto da alimentação sobre a sua saúde, aceitam cada vez menos a utilização deste tipo de substâncias na alimentação de animais de interesse zootécnico, sendo por isso desejável encontrar outras formas de proteger os AG da BH ruminal (Doreau et al., 2016).

A suplementação das dietas com sementes inteiras de oleaginosas permite uma proteção física parcial em relação à BH ruminal que depende da dureza da casca, do tamanho da semente e da mastigação realizada pelos animais, que quebra a casca da semente (revisto por Doreau et al. (2012, 2011).

Uma das estratégias nutricionais que contribui para uma redução significativa da extensão da BH ruminal é a utilização de dietas que contenham mais de 70% de alimento concentrado no total de MS ingerida. Estas dietas são frequentemente utilizadas durante o período de engordas de bovinos e ovinos. A causa da menor extensão da BH ruminal tem sido associada com o baixo pH ruminal induzido por este tipo de dietas. Em condições fisiológicas normais o pH do rúmen varia entre 6 e 7, valor que pode baixar para cerca de 5,5 com dietas à base de alimento concentrado. Nestas condições a atividade das enzimas

microbianas, lipases e em particular isomerases e hidrolases, apresentam uma atividade diminuída como foi demonstrado *in vitro* (Troegeler-Meynadier et al., 2006; Van Nevel and Demeyer, 1996). Contudo, esta estratégia tem implicações também ao nível da completude da BH ruminal que abordaremos no ponto seguinte (ponto 2.3.3 – Fatores que afetam a distribuição dos intermediários da biohidrogenação).

2.3.3 Fatores que afetam a distribuição dos intermediários da biohidrogenação ruminal

De acordo com os atuais conhecimentos sobre os efeitos dos AG *t*-18:1 e do *c*9,*t*11-18:2 sobre a saúde humana, é desejável aumentar o teor em *c*9,*t*11-18:2 e de *t*11-18:1 nos produtos dos ruminantes e reduzir os de *t*9-18:1 e *t*10-18:1 (Aldai et al., 2013). No entanto, ao contrário destes AG (*t*9-18:1, *t*10-18:1, *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2), o efeito de muitos dos intermediários da BH ruminal presentes nos produtos dos ruminantes não estão estudados relativamente aos seus efeitos sobre a saúde humana (Aldai et al., 2013; Mapiye et al., 2015).

Os efeitos da dieta sobre os níveis de CLA no leite e na carne de animais ruminantes têm sido revistos nos últimos anos por diversos autores (Bauman and Griinari, 2001; Bessa et al., 2015; Doreau et al., 2011; Dugan et al., 2011; Griinari and Bauman, 1999; Mapiye et al., 2015; Palmquist et al., 2005; Vahmani et al., 2015). O potencial para aumentar a síntese de CLA no rúmen é relativamente limitado comparativamente ao que se estima ser necessário de modo a enriquecer os produtos dos ruminantes para níveis que representem um benefício para a saúde dos consumidores (Siurana and Calsamiglia, 2016). Para além disso, a redução dos isómeros *t*-18:1 a 18:0 parece ser o passo limitante da BH completa, pelo que os efeitos da dieta sobre o metabolismo ruminal dos lípidos tendem a ter consequências mais pronunciadas nas quantidades e proporções relativas dos isómeros *t*-18:1 que abandonam o rúmen comparativamente a outros intermediários da BH, incluindo os isómeros de CLA (Doreau et al., 2016). Deste modo, o enriquecimento da carne em *c*9,*t*11-18:2 depende principalmente i) da produção ruminal de *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2, ii) da conversão endógena do *t*11-18:1 a *c*9,*t*11-18:2 pela delta9-desaturase (SCD) e iii) da quantidade de *c*9,*t*11-18:2 disponível para deposição nos tecidos (Bessa et al., 2015).

É hoje reconhecido que grande parte do *c*9,*t*11-18:2 encontrado nos produtos dos ruminantes resulta da dessaturação do *t*11-18:1 pela enzima SCD (Griinari and Bauman, 1999; Palmquist et al., 2005) pelo que não é possível aumentar a produção daquele isómero de CLA nos tecidos diminuindo a produção ruminal de *t*11-18:1 (Bessa et al., 2015; Dugan et al., 2011; Shingfield and Wallace, 2014). De acordo com Griinari e Shingfield (2002), citados por Palmquist et al. (2005), a produção ruminal de *t*11-18:1 depende i) do fornecimento de substrato, ii) da inibição da redução dos isómeros *t*-18:1 a 18:0 e iii) da prevenção do *shift*

das vias de BH que conduz à formação de $t_{10-18:1}$ em vez do desejável $t_{11-18:1}$ (*shifttrans*-10). Uma vez que, no que diz respeito à melhoria do teor em $c_{9,t_{11-18:2}}$ dos produtos dos ruminantes, os efeitos mais importantes da dieta sobre a completude da BH ruminal parecem estar relacionados com a produção de $t_{11-18:1}$ e o controlo da produção de $t_{10-18:1}$, iremos centrar este ponto nos fatores que regulam a síntese destes dois isómeros $t-18:1$.

A quantidade e o tipo de intermediários da BH ruminal depende do nível de suplementação lipídica e do tipo de suplemento utilizado (Chilliard et al., 2007; Harfoot and Hazlewood, 1997; Jenkins and Wallace, 2008). De um modo geral, a proporção de isómeros $t-18:1$ na carne aumenta de forma linear com a suplementação lipídica até às 60g/kg de MS ingerida, valor a partir do qual se observa um efeito negativo sobre a digestão ruminal (Dugan et al., 2011; Shingfield et al., 2013). O perfil de isómeros $t-18:1$ também pode ser influenciado pelo tipo de suplemento lipídico adicionado à dieta (Dugan et al., 2011). A utilização de suplementos lipídicos ricos em $c_{9-18:1}$, $18:2n-6$ e $18:3n-3$ resulta, respetivamente, numa melhoria das proporções de t_6 a $t_9-18:1$, t_{10} a $t_{12-18:1}$ e t_{11} a $t_{16-18:1}$ (Chilliard et al., 2007; Duckett and Gillis, 2010; Mapiye et al., 2013a; Shingfield et al., 2013) pelo que os suplementos lipídicos ricos em $18:2n-6$ são considerados por diferentes autores (Bessa et al., 2007; Jerónimo et al., 2009; Mapiye et al., 2013a) mais eficientes no aumento do $t_{11-18:1}$ do que os ricos em $18:3n-3$.

Os suplementos lipídicos de origem marinha (óleos de peixe e microalgas) têm também sido associados com o aumento da proporção de isómeros $t-18:1$ com ligações duplas entre os carbonos Δ_6 e Δ_{15} (Shingfield et al., 2013) pelo que os $n-3$ LC-PUFA do óleo de peixe (rico em DHA e EPA) são tão ou até mais eficientes que os óleos ou sementes ricas em $18:2n-6$ e $18:3n-3$ no aumento de isómeros $t-18:1$, incluindo o $t_{11-18:1}$, nos lípidos dos ruminantes (Mapiye et al., 2015; Schmid et al., 2006). A acumulação de isómeros $t-18:1$ com a suplementação das dietas com fontes ricas em PUFA deve-se à inibição da redução dos $t-18:1$ a $18:0$, associado ao efeito tóxico destes AG sobre as bactérias que realizam o último passo da BH ruminal (Lourenço et al., 2010). Este efeito depende do grau de insaturação do PUFA pelo que os LC-PUFA são considerados inibidores mais potentes da BH ruminal dos isómeros $18:1$ a $18:0$ (Lourenço et al., 2010). Neste contexto, a suplementação das dietas com misturas ricas em $18:2n-6$ e $18:3n-3$ em combinação com DHA e EPA podem resultar num efeito aditivo sobre a acumulação de $t_{11-18:1}$ na carne (Mapiye et al., 2015).

Porém, a influência dos suplementos lipídicos sobre os isómeros $t-18:1$ é fortemente influenciada pela composição da dieta base, em especial pela quantidade e tipo de forragem e a proporção de alimento concentrado na dieta.

A alimentação de ruminantes com dietas à base de forragens resulta normalmente no aumento da proporção de CLA ($c_{9,t_{11-18:2}}$) e de $t_{11-18:1}$ e numa redução da proporção de

*t*10-18:1 depositados na carne. Este efeito positivo da alimentação à base de forragens deve-se, provavelmente, ao tipo de hidratos de carbono disponíveis nas forragens (elevadas concentrações de fibra solúvel e açúcares fermentescíveis) que criam um ambiente favorável ao desenvolvimentos dos microrganismos responsáveis pela produção ruminal de *c*9,*t*11-18:2 e *t*11-18:1 sem redução do pH ruminal (Noci et al., 2005).

O tipo de forragem (pastagens, forragens em verde, forragens conservadas) (Mapiye et al., 2013b; Nassu et al., 2011) utilizada na alimentação dos animais tem igualmente influência sobre a quantidade de *c*9,*t*11-18:2 e *t*11-18:1 depositada na carne (Mapiye et al., 2012a; Scollan et al., 2014). A razão para as diferenças encontradas em diversos trabalhos parece dever-se a diferenças na quantidade de 18:3n-3 disponível, no tipo de hidratos de carbono presentes, nos microrganismos associados às forragens, no equilíbrio dinâmico entre microrganismos ruminais e na taxa de passagem duodenal variável entre os tipos de forragens (Mapiye et al., 2015; Petri et al., 2014).

O estado fenológico das forragens é outro fator que influencia o perfil de isómeros *t*-18:1 presentes na carne uma vez que a alimentação com forragens num avançado estado de maturação pode diminuir o teor de PUFA disponíveis para o processo de BH ruminal (Mir et al., 2006). As diferenças podem também estar relacionadas com a presença de metabolitos secundários das plantas (taninos, saponinas) que podem interferir não só com a extensão da BH ruminal, como vimos anteriormente, mas também a sua completude (Lourenço et al., 2010).

A composição química dos taninos (diferentes tipos de taninos condensados ou hidrolisáveis), bem como a sua concentração, depende da espécie botânica, da parte da planta, do estado fenológico e de fatores ambientais, como o clima, o solo e a topografia do local (revisto por Patra and Saxena, 2011; Waghorn, 2008). As propriedades biológicas dos taninos dependem da sua estrutura química (Waghorn, 2008), que parece ser mais determinante dos seus efeitos do que a sua concentração na dieta. Os efeitos dos taninos sobre o perfil de AG dos produtos dos ruminantes têm sido associados com a toxicidade destes compostos sobre as espécies bacterianas envolvidas na BH ruminal dos AG, em resultado da interação com as membranas celulares bacterianas e consequente alteração das suas propriedades, ou por interferência com as enzimas extracelulares bacterianas (Khiaosa-Ard et al., 2009; Patra and Saxena, 2011; Vasta et al., 2010b). Para além disso, parece que diferentes tipos de taninos, isto é, taninos condensados ou taninos hidrolisáveis, podem contribuir para modificar o perfil de AG dos produtos dos ruminantes interferindo em diferentes passos do processo de BH ruminal, permitindo de forma diferenciada aumentar o teor em PUFA, *c*9,*t*11-18:2, *t*11-18:1 ou diminuir o 18:0 (Jayanegara et al., 2012; Khiaosa-Ard et al., 2009).

O efeito dos taninos estará também dependente da dose utilizada (Carreño et al., 2015), pelo

que podem interferir não só com a extensão, mas também com a completude da BH ruminal. Estudos *in vitro* demonstram que elevados níveis de taninos condensados pode levar a reduções do *Butyrivibrioproteoclasticus*, uma bactéria conhecida por realizar a conversão final do $t11-18:1$ a $18:0$ (Vasta et al., 2010b). A suplementação de dietas à base de forragem com extratos de plantas ricos em taninos (Jerónimo et al., 2012, 2010a, Vasta et al., 2010a, 2007) tem resultado em aumentos dos isómeros $t-18:1$, no total e individualmente, com melhoria do teor de $t11-18:1$ na carne e consequentemente melhores rácio $t10/t11-18:1$. Contudo, *in vivo* a utilização de concentrações elevadas de taninos condensados limita o desempenho animal pelo que será importante realizar mais investigação no sentido de averiguar os efeitos destes compostos quando em concentrações inferiores a 4,5% da MS da dieta (Vasta et al., 2010b).

As saponinas têm sido investigadas principalmente devido às suas propriedades desfaunantes e anti-metanogénicas (Patra and Saxena, 2011). Para além disso, foi observado que extratos de *Yucca schidigera* inibiam o crescimento do *B. fibrisolvens* (Wallace et al., 1994), sugerindo existir potencial para as saponinas modificarem a BH ruminal dos AG. Contudo, investigações mais recentes não confirmam os efeitos das saponinas sobre a composição em AG do fluido ruminal (Khiaosa-Ard et al., 2009), do leite (Benchaar and Chouinard, 2009) ou da carne (Brogha et al., 2011).

Os óleos essenciais têm também demonstrado apresentar atividade sobre diversas bactérias envolvidas na BH ruminal (Calsamiglia et al., 2007; Lourenço et al., 2010; Vasta and Luciano, 2011). Os seus efeitos, no entanto, são variáveis dependendo da natureza dos compostos que os constituem, do nível de aplicação, da dieta base e do período de adaptação dos microrganismos ruminais à sua presença no meio (Benchaar et al., 2008).

Alguns extratos e óleos essenciais de plantas australianas foram referidos como tendo um efeito inibidor seletivo sobre o *B. proteoclasticum* (associado à formação de $18:0$ a partir de $18:2n-6$) sem, no entanto, afetarem o *B. fibrisolvens* (associado à formação de $c9,t11-18:2$ e $t11-18:1$, mas não de $18:0$), pelo que podem inibir de forma diferenciada a saturação do $18:2n-6$, do $c9,t11-18:2$ ou do $t11-18:1$ *in vitro* (Durmic et al., 2008). Os resultados, no entanto, têm sido pouco consistentes, o que poderá estar relacionado com a degradação ou neutralização destes compostos no rúmen ou com o desenvolvimento de mecanismos de resistência por parte da microbiota ruminal. Assim, por exemplo, a alimentação de vacas leiteiras (Benchaar and Chouinard, 2009) e de borregos (Chaves et al., 2011, 2008) com óleos essenciais não resultou numa alteração do perfil de AG dos produtos enquanto os trabalhos de Bouteau et al. (2013), Vasta et al. (2013), Vasta and Luciano (2011) mostraram alterações no perfil de AG no leite e na carne de animais ruminantes.

Nos últimos anos tem crescido o interesse pelos compostos fitoquímicos das plantas como forma de modular a BH ruminal (Wallace, 2004). É provável que o uso destes compostos

como aditivos em alimentação animal seja bem aceite por parte dos consumidores, devido à sua imagem natural, pelo que será interessante realizar mais investigação no sentido de encontrar plantas/extratos de plantas capazes de modular a BH ruminal mantendo uma atividade fermentativa normal (Doreau et al., 2016; Vasta and Luciano, 2011). Para além disso, tem sido verificado que a utilização de alimentos ou extratos ricos em compostos secundários das plantas pode apresentar vantagens adicionais relacionadas com a melhoria da qualidade dos produtos, como sejam redução de *off-flavours* e de odores rancificados, melhoria da estabilidade oxidativa e prevenção da descoloração da carne e consequente aumento do tempo de prateleira (Vasta and Luciano, 2011).

A alimentação com dietas à base de forragens suplementadas com níveis elevados de PUFA resulta numa melhoria do perfil de isómeros *t*-18:1 e de *c*9,*t*11-18:2 da carne (Bessa et al., 2015, 2005) sendo as respostas maiores comparativamente à alimentação apenas com forragem (Mapiye et al., 2013a; Nassu et al., 2011; Sackmann et al., 2003) e dependentes da duração do período de alimentação ou de pastoreio (Aldai et al., 2011; Alfaia et al., 2009; Noci et al., 2007a).

A forma de apresentação da forragem é também um fator importante a ter em consideração no impacto da suplementação com PUFA sobre o perfil lipídico da carne devido aos efeitos do tamanho da partícula sobre a cinética digestiva e sobre a BH ruminal (Shingfield et al., 2013). Santos-Silva et al. (2004) encontraram teores mais elevados de *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2 nos lípidos da carne de borregos alimentados com feno de luzerna suplementado com óleo de soja comparativamente à suplementação de luzerna desidratada granulada com óleo de soja. Estes resultados podem ser explicados pela diminuição da taxa de passagem e por um pH ruminal mais favorável com feno, comparativamente à luzerna desidratada granulada, devido ao maior tamanho de partícula.

Embora a alimentação com dietas à base de forragem possa permitir reduzir a competição alimentar entre humanos e animais de produção, apresenta, contudo, limitações relacionadas com as baixas taxas de crescimento, carcaças menos bem conformadas, aumento da idade para o mesmo peso de abate, implicando a existência de área para a sua produção (Mapiye et al., 2013a; Vahmani et al., 2015). Para além disso, a carne de ruminantes alimentados com dietas à base de forragem pode apresentar características sensoriais (cor, tenrura e *flavour*) menos bem aceites por alguns consumidores (Elmore et al., 2005; Montossi et al., 2013; Sañudo et al., 2000; Wood et al., 2003). Deste modo, é frequente em muitos sistemas de produção de bovinos e ovinos de aptidão creatopoiética a prática de um período de engorda e/ou acabamento onde são utilizadas dietas à base de alimentos concentrados ricos em cereais, com reduzidas proporções de forragem, permitindo obter carcaças mais bem conformadas, com maior deposição de gordura intramuscular e melhores características sensoriais (Aldai et al., 2013; Scollan et al., 2014).

Contudo, nestas condições, a redução do pH ruminal, associado ao elevado teor de amido e baixo teor em fibra da dieta, aumentam o risco de distúrbios digestivos (por exemplo, acidose) e conduzem a alterações na microbiota ruminal, diminuindo a população de bactérias celulolíticas, como o *B.fibrisolvens*, produtor de *t*11-18:1, e aumentando a população de bactérias amilolíticas, como a *Megasphaera elsdenii*, produtora de *t*10-18:1 (Aldai et al., 2013; Dugan et al., 2011).

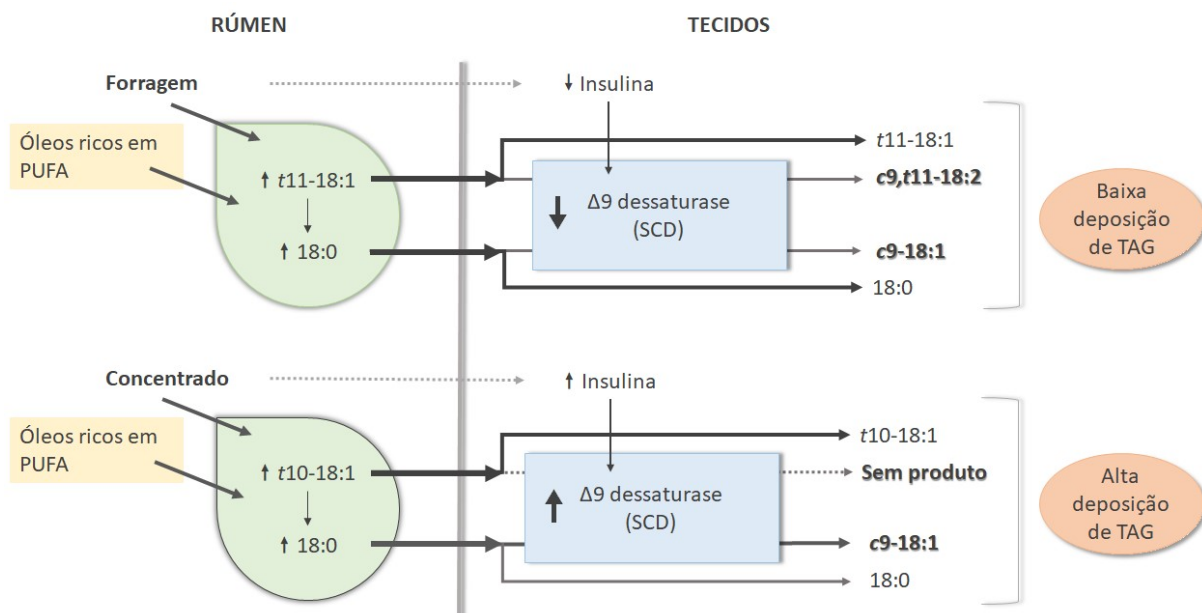
2.3.3.1 *Shift trans*-10 das vias de biohidrogenação ruminal

Durante muitos anos, o *t*11-18:1 foi considerado como o principal isômero *t*-18:1 presente nos produtos dos ruminantes. Contudo, a melhoria das técnicas de análise por cromatografia gasosa permitiu verificar que esta nem sempre é uma condição verdadeira (Griinari and Bauman, 1999) pelo que em determinadas circunstâncias o *t*10-18:1 pode ser o principal isômero *t*-18:1 presente, podendo apresentar proporções 5 a 20 vezes superiores às do *t*11-18:1 (Aldai et al., 2013; Bessa et al., 2015). Esta alteração no padrão de isômeros *t*-18:1 é conhecida por *shifttrans*-10. A ocorrência do *shifttrans*-10, além de poder ter consequências negativas para a saúde humana (Aldai et al., 2013), inviabiliza qualquer aumento do *c*9,*t*11-18:2 uma vez que o *t*10-18:1 não é um precursor daquele isômero de CLA (Figura 2.8) (Bessa et al., 2015).

Um levantamento recente do perfil de AG do tecido adiposo de borregos no norte de Espanha indica que cerca de 50% das amostras analisadas apresentam um elevado teor de *t*10-18:1 (Bravo-Lamas et al., 2016). Assim, a acumulação de *t*10-18:1 em detrimento do *t*11-18:1 e *c*9,*t*11-18:2 diminui claramente o valor nutricional da carne de animais ruminantes alimentados em sistemas intensivos pelo que é importante que sejam investigadas formas de o prevenir (Aldai et al., 2013; Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015) (Figura 2.9).

Para além da clara associação do *shifttrans*-10 com dietas à base de alimento concentrado, ricas em amido, e ricas em PUFA, pouco se sabe sobre outros fatores da dieta que estejam na sua origem (Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015; Zened et al., 2013b, 2012). Para além do nível de amido, também a degradabilidade ruminal do amido, parece poder ter um importante papel na indução do *shifttrans*-10. Recentemente, Lascano et al. (2016) em fermentadores de fluxo contínuo observaram que o aumento da degradabilidade ruminal do amido conduziu a uma redução do *t*11-18:1 e do *c*9,*t*11-18:2 e a um aumento do *t*10-18:1 e do *t*10,*c*12-18:2. De igual modo, Jurjanz et al. (2004) observaram uma elevada concentração em *t*10-18:1 no leite quando vacas leiteiras foram alimentadas com amido de trigo comparativamente a amido de batata e associaram estes resultados com as diferenças de degradabilidade ruminal das fontes de amido. Deste modo, a comunidade científica tem procurado formas de controlar o *shifttrans*-10 em animais ruminantes alimentados com

Figura 2.8– Representação esquemática das principais vias que podem limitar a deposição de $c9,t11-18:2$ na carne de animais ruminantes com dietas à base de forragem e à base de alimento concentrado.

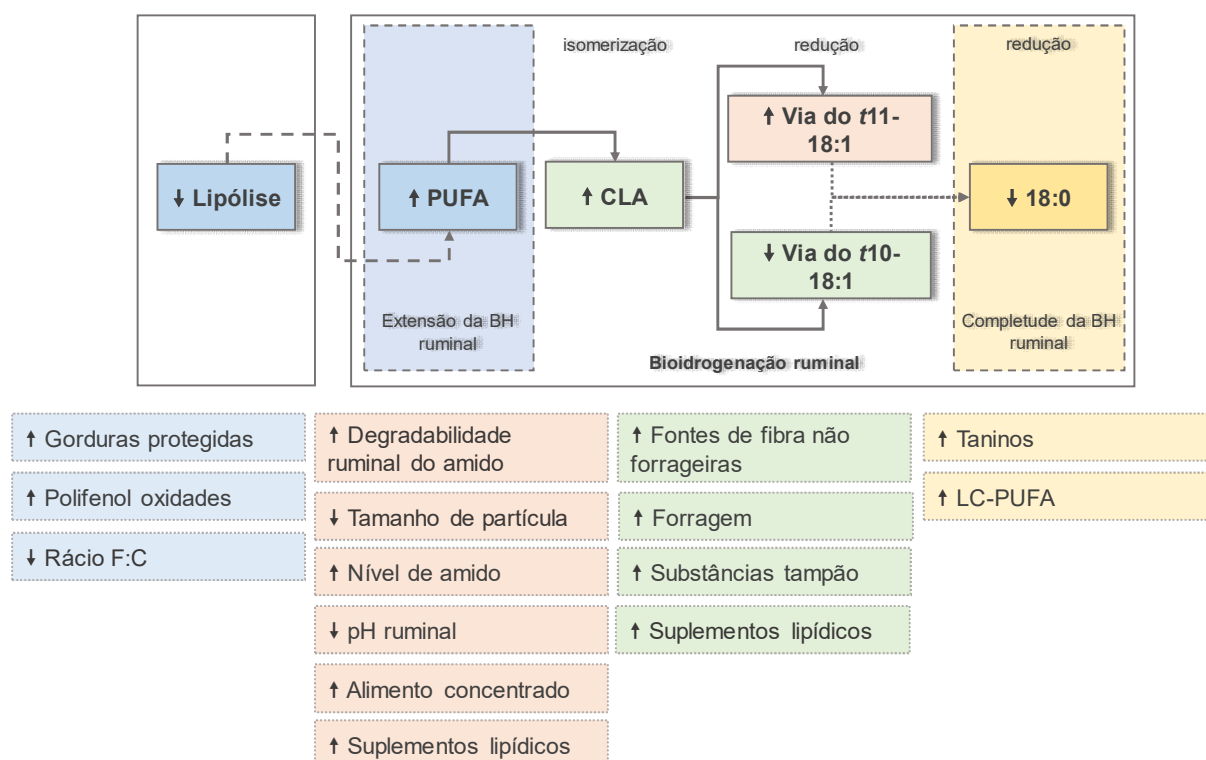


[As dietas à base de forragem aumentam o fluxo ruminal de $t11-18:1$ mas estão associadas com uma baixa secreção de insulina e uma baixa atividade da SCD, limitando a síntese endógena de $c9,t11-18:2$ e a deposição de TAG. As dietas à base de alimento concentrado aumentam o fluxo ruminal de $t10-18:1$ bem como a secreção de insulina e a atividade da SCD nos tecidos. Endogenamente, o $t10-18:1$ não dá origem a qualquer produto pelo que se acumula nos tecidos. Adaptado de Bessa et al. (2015)].

dietas à base de alimentos concentrados.

Os antibióticos ionóforos inibem a lipólise e subsequentemente reduzem a formação de grupos carboxílicos livres necessários à hidrogenação das ligações duplas e, consequentemente, diminuem a BH ruminal dos UFA a $18:0$, levando à acumulação de intermediários da BH (Jenkins et al., 2003). *In vitro*, em fermentadores contínuos, foi verificado que diferentes ionóforos, incluindo monensina, nigerцина e tetronasina, isoladamente (Fellner et al., 1997) ou uma combinação de monensina com óleo de soja resultou no aumento de isómeros $t-18:1$ e $c9,t11-18:2$ (Jenkins et al., 2003). A adição de antibióticos (ionóforos e não ionóforos) a dietas à base de alimento concentrado não aumentaram (Ladeira et al., 2014; Song et al., 2010) ou aumentaram ligeiramente (Aldai et al., 2008; Faucitano et al., 2008) os isómeros $t-18:1$ em bovinos de carne. Aldai et al. (2008) sugerem que os antibióticos ionóforos com um reduzido espectro antimicrobiano têm provavelmente um maior impacto no perfil de isómeros $t-18:1$ da carne de bovino do que os antibióticos com largo espectro de atividade antimicrobiana. A utilização de antibióticos como promotores de crescimento, contudo, está proibida em muitos países, nomeadamente na União Europeia, devido aos seus efeitos negativos sobre a resistência antimicrobiana. Esta limitação tem fomentado a investigação de estratégias alternativas, como o uso de

Figura 2.9– Esquema resumo das diferentes estratégias nutricionais que podem ser utilizadas na modulação da biohidrogenação ruminal.



substâncias tampão e de compostos secundários das plantas, como forma de modificar o perfil lipídico dos produtos dos ruminantes.

A substituição parcial dos cereais por fontes de fibra não forrageiras (por exemplo, DDGS - Destilados de cereais secos com solúveis - de milho e de trigo - e polpas de citrinos) tem sido uma estratégia utilizada como forma de influenciar a proporção de isômeros *t*-18:1 e de *c*9,*t*11-18:2 presentes na carne de animais ruminantes (Figura 2.9). Os subprodutos da indústria agroalimentar como os DDGS e a polpa de citrinos apresentam baixos teores em amido e teores de fibra relativamente elevados. A sua inclusão em dietas à base de alimento concentrado pode permitir criar condições de pH mais elevado (mais próximo da neutralidade) e mais estável, favorecedoras da produção de *t*11-18:1. Deste modo, foi observado que a substituição de grão de cevada por DDGS de trigo (Aldai et al., 2010a; Dugan et al., 2010) ou de tritcale (He et al., 2014, 2012) em bovinos de carne diminuiu o total de isômeros *t*-18:1 e o *t*10-18:1 enquanto a substituição de grão de cevada por DDGS de milho teve um efeito inverso (Aldai et al., 2010a). A substituição de grãos de cereais por DDGS de milho noutros trabalhos resultou igualmente num aumento dos isômeros *t*-18:1 (Gill et al., 2008; Mello et al., 2012; Vander Pol et al., 2009). Estes resultados sugerem que a substituição de cereais por DDGS de cereais de grão pequeno produzem um perfil de isômeros *t*-18:1 mais desejável (Mapiye et al., 2015).

A polpa de citrinos, rica em pectinas e açúcares e de baixo teor em amido, tem sido utilizada como alternativa aos cereais, permitindo rácios acetato:propionato e pH ruminais mais altos sem efeitos adversos na produtividade dos animais (Bampidis and Robinson, 2006). A substituição de cevada por polpa de citrinos desidratada em dietas de borregos resultou numa redução da completude da BH ruminal e numa maior acumulação de intermediários da BH no plasma (Lanza, 2015). De igual modo, Santos-Silva et al. (2015) observaram que a substituição parcial de cereais por polpa de citrinos desidratada em dietas de ovelhas leiteiras suplementadas com óleo de soja resultou num aumento dos teores de $t11-18:1$ e $c9,t11-18:2$ no leite.

A suplementação das dietas de animais ruminantes com substâncias tampão é há muito utilizada com o intuito de prevenir descidas abruptas no pH do rúmen, mantendo um ambiente ruminal estável e melhorando a ingestão em animais alimentados com dietas ricas em alimento concentrado, pelo que tem sido tentada também como forma de reduzir o *shifttrans*-10 melhorando (*i.e.*, diminuindo) o rácio $t10/t11$ da carne de ruminantes (Aldai et al., 2010b; Jerónimo et al., 2010b; Kalscheur et al., 1997) (Figura 2.9). Contudo, os efeitos da utilização de substâncias com efeito tampão nas dietas como forma de controlar as vias de BH ruminal dos AG parece ser mínimo, tendendo a desaparecer com o tempo (ao fim de 30-50 dias, segundo Aldai et al., 2010b). Para além disso, as respostas à suplementação das dietas com substâncias com efeito tampão parecem depender de outros fatores como, por exemplo, o tipo de substância tampão, dose utilizada, acidez e capacidade tampão das dietas (Cabrita et al., 2009).

A suplementação de dietas à base de alimento concentrado com antioxidantes, naturais ou sintéticos, tem sido usada igualmente como forma de promover o desejável equilíbrio entre o $t11-18:1$ e o $t10-18:1$ em ruminantes. Deste modo, a suplementação de dietas à base de alimento concentrado com vitamina E permitiu reduzir a deposição de $t10-18:1$, mantendo ou mesmo aumentando a proporção de $t11-18:1$ em bovinos de carne (Juárez et al., 2011, 2010; Mapiye et al., 2012b). Uma vez que a manipulação do perfil de AG, de modo a aumentar a deposição de PUFA nos lípidos da carne pode, contudo, aumentar o risco de deterioração da cor, de oxidação da fração lipídica e proteica, induzindo alterações nas propriedades sensoriais e nutricionais da carne (Falowo et al., 2014; Wood et al., 2008), a utilização de antioxidantes pode apresentar vantagens adicionais ao permitir melhorar o tempo de prateleira e a aceitabilidade da carne por parte do consumidor (Bekhit et al., 2013; Falowo et al., 2014; Shah et al., 2014).

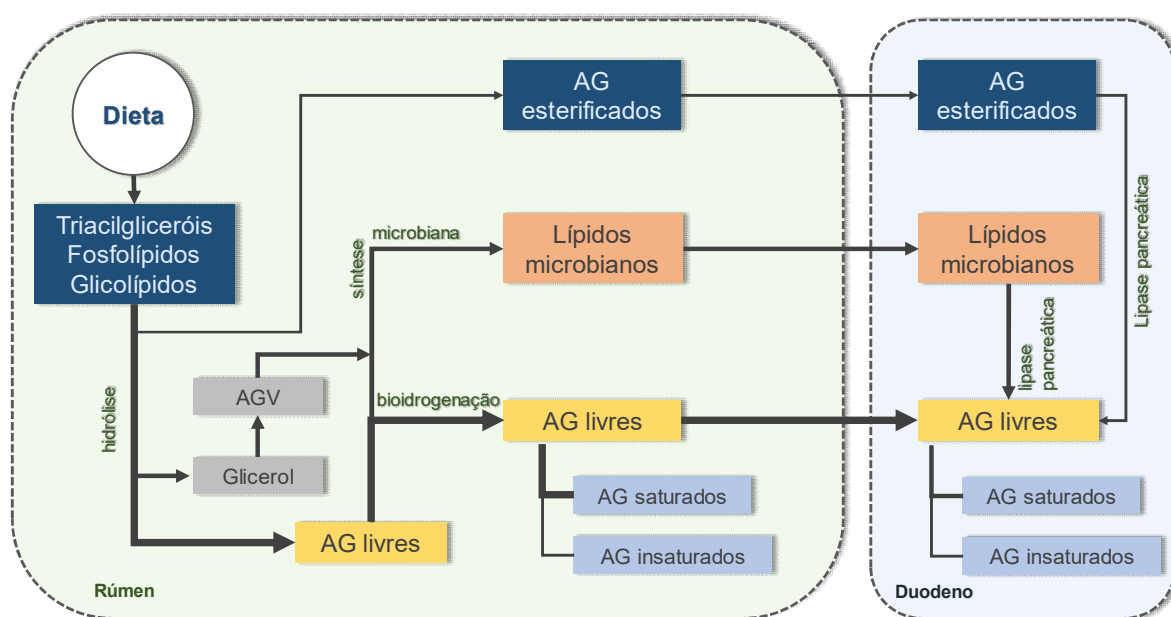
2.4 Deposição de lípidos no tecido muscular

2.4.1 Digestão e absorção intestinal dos lípidos

Em resultado da digestão ruminal dos lípidos, como vimos anteriormente, produz-se ácido esteárico e diversos monoenos e dienos insaturados de configuração *trans* que, depois de abandonarem o rúmen, ficam disponíveis para absorção. Para além destes, a digesta contém também diversos AG produzidos pela flora microbiana, nomeadamente OBCFA e FL microbianos bem como AG da dieta que escapam, inalterados, ao processo de BH ruminal. Durante o trânsito ao longo do omaso e abomaso, os AG de cadeia média e longa não são absorvidos nem sofre modificações (Bauman et al., 2003). Assim, aproximadamente 80 a 90% do fluxo duodenal de AG é composto por AG livres (predominantemente saturados) (Figura 2.10) (Doreau and Chilliard, 1997; Lock et al., 2006), correspondendo os restantes a FL microbianos e pequenas quantidades de TAG e GL associados a material alimentar residual que, não tendo sido digeridos no rúmen, são hidrolisados pelas lipases pancreáticas e intestinais no intestino delgado (Doreau and Ferlay, 1994; Drackley, 2000). No rúmen, que apresenta em condições normais um pH próximo da neutralidade (6,0-6,8), a maioria dos AG livres encontram-se, de facto, sob a forma de sabões de K, Na ou Ca. Uma vez no abomaso, as condições mais ácidas ($\text{pH} \approx 2,0$) dissociam os sabões de AG, ficando os AG livres sob a forma protonada, ou seja não iónica, o que facilita a sua adsorção à superfície das partículas de alimento (Bauchart, 1993).

A absorção de AG ocorre predominantemente no jejuno. Contudo, este processo não

Figura 2.10– Origem dos lípidos presentes no duodeno de animais ruminantes.



pode ocorrer sem que os lípidos sejam primeiro solubilizados no ambiente aquoso. Para este efeito, e tal como acontece noutras espécies, ocorre a formação de micelas de modo a permitir uma eficiente absorção dos AG (Doreau and Chilliard, 1997), o que é facilitado pela atividade dos sucos biliares e pancreáticos, segregados na região proximal do duodeno onde se inicia a digestão dos AG (Bauchart, 1993).

A bÍlis contém sais biliares e lecitina (fosfatidilcolina) e o suco pancreático fornece fosfolipase A₂ pancreática, de modo a converter a lecitina em lisolecitina (lisofosfatidilcolina), e bicarbonato, que sobe o pH do meio (Bauman et al., 2003). A lisolecitina, conjuntamente com os sais biliares, libertam os AG das partículas de alimento e das bactérias, facilitando a transferência dos lípidos para a fase micelar solúvel. Este passo é absolutamente fundamental para que a absorção de AG possa ocorrer (Drackley, 2000). As micelas formadas, solúveis em água, permitem o transporte dos AG contidos no seu interior através da camada aquosa que recobre as microvilosidades do jejuno, onde os AG e a lisolecitina são absorvidos por difusão através da bicamada lipídica (Lock et al., 2006). Os sais biliares não sendo absorvidos no jejuno continuam a formar micelas. A maioria dos sais biliares são absorvidos no íleo, retornando ao fígado para serem de novo incorporados na bÍlis (Drackley, 2000). A absorção de AG é facilitada pela manutenção de um gradiente de concentração entre o lúmen intestinal e o meio celular (Drackley, 2000).

Os ruminantes, comparativamente aos monogástricos, apresentam uma elevada capacidade para absorver os AG da dieta e, em particular, os SFA como o 16:0 e 18:0 (Bauchart, 1993). Uma vez que o 18:0 é o principal AG que chega ao intestino delgado, foi proposto que a maior capacidade dos ruminantes para absorver os SFA se deva à capacidade da lisolecitina como principal agente estabilizador das micelas (Bauchart, 1993). Para além disso, o baixo pH duodenal minimiza a formação de sabões de palmitato e de estearato de cálcio (que se sabe serem pouco absorvidos em monogástrico) e a presença de taurocolato de sódio como principal sal biliar minimiza a probabilidade se tornarem insolúveis nas condições mais ácidas do intestino delgado dos ruminantes (Drackley, 2000; Lock et al., 2006). Deste modo, a digestibilidade dos AG de cadeia longa é geralmente elevada em ruminantes. Contudo, a capacidade de absorver AG diminui com o aumento da suplementação da dieta com lípidos, devido a limitações na produção de lipases pancreáticas e sais biliares (Bauchart, 1993).

Uma vez nos enterócitos, os AG absorvidos de comprimento de cadeia superior a 10 carbonos são convertidos nos respetivos acil-CoA por ação da acil-CoA sintetase e re-esterificados em TAG. Após ativação e re-esterificação, os TAG em conjunto com outros componentes lipídicos (fosfolípidos, colesterol e ésteres de colesterol) são acondicionados com apo-proteínas sintetizadas nos enterócitos, formando quilomicrons e VLDL (*very low density lipoprotein*) (Bauchart, 1993) que deixam as células por pinocitose, sendo libertadas

na linfa e depois no sistema venoso através do ducto torácico (Vernon and Flint, 1988). Uma vez na corrente sanguínea, os quilomicrons e as VLDL adquirem apo-proteínas a partir do HDL circulante que vão permitir ativar a LPL (lipase lipoproteica) extra-hepática responsável pela absorção dos TAG circulantes (Drackley, 2000). Por seu lado, os AG de cadeia curta (iguais ou inferiores a 10 carbonos), não sendo facilmente esterificados, não são incorporados em lipoproteínas, deixando os enterócitos praticamente inalterados, sendo transportados para o fígado, ligados a albumina, através da veia porta (Drackley, 2000; Hocquette and Bauchart, 1999).

2.4.2 Síntese de triacilgliceróis no tecido muscular

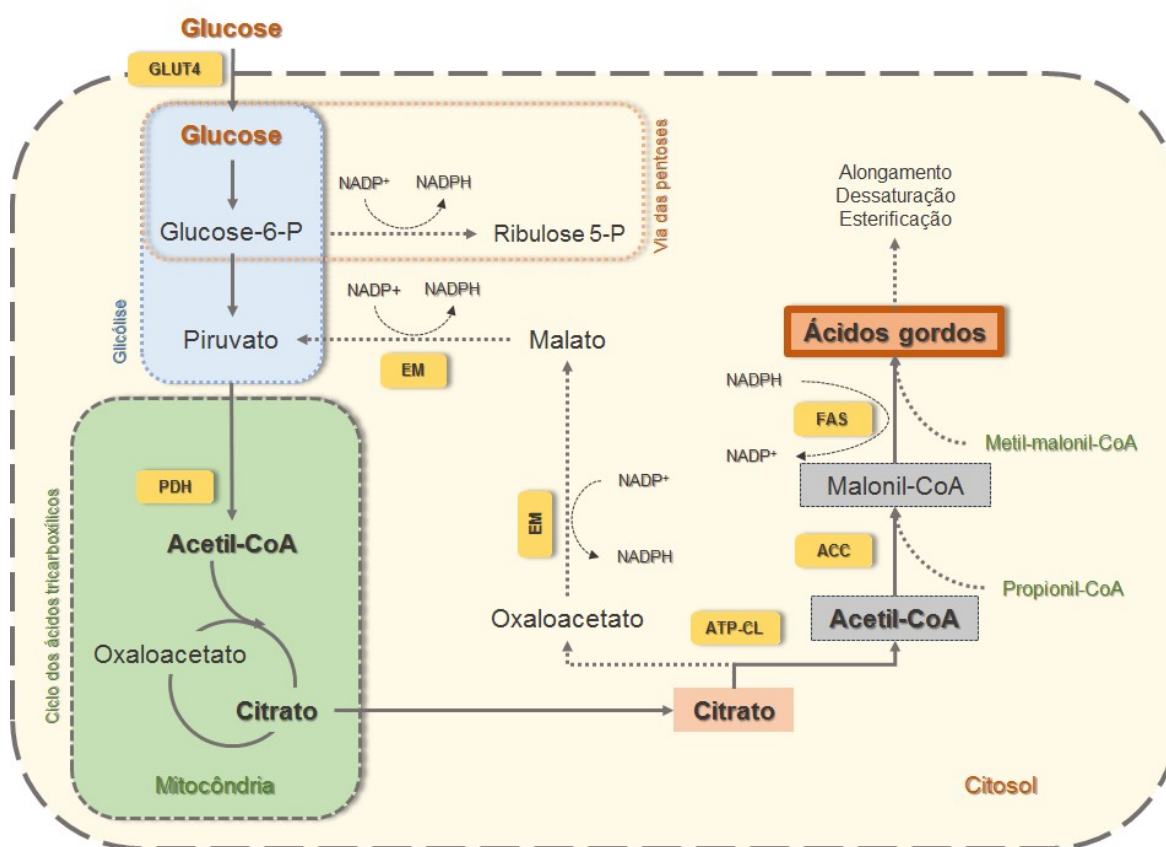
A síntese de TAG no músculo ocorre ao nível dos adipócitos intramusculares (Hocquette et al., 2005a; Smith and Grouse, 1984). De um modo geral, a síntese de TAG nos tecidos, ou lipogénese, envolve dois processos bioquímicos. Por um lado, a hidrólise pela LPL dos lípidos transportados pelas lipoproteínas (quilomicrons e VLDL), cria um aumento de concentração de AG livres o que aumenta a probabilidade de serem absorvidos pelos adipócitos, e por outro, a síntese endógena de AG (síntese *de novo*) a partir de glucose ou de AGV produzidos no rúmen.

2.4.2.1 Síntese *de novo* de ácidos gordos

A síntese *de novo* de AG necessita de dois elementos, por um lado, uma reserva de acetil-CoA (citoplasmática) e por outro, a presença de equivalentes redutores, sob a forma de NADPH (Lalot et al., 2010). O acetil-CoA pode ter origem em diferentes precursores (glucose, aminoácidos, lactato, piruvato ou acetato). Embora o acetato seja claramente o principal precursor dos AG nos animais ruminantes, iremos dar mais importância à lipogénese a partir da glucose, uma vez que é preponderante no tecido adiposo intramuscular, podendo contribuir para 50 a 75% dos carbonos dos AG sintetizados *de novo* (Smith and Grouse, 1984) naquele depósito lipídico. De facto, Hocquette et al. (2005) mostraram que a expressão da GLUT4 (iso-forma 4 do transportador de glucose) bem como a atividade da PFK (fosfofrutoquinase) e da ATP-citrato liase foram maiores na gordura intramuscular do que no tecido adiposo subcutâneo, indicando um maior potencial para a síntese de acetil-CoA a partir de glucose o que sugere que o IMF apresenta uma maior capacidade para sintetizar AG a partir de glucose comparativamente aos restantes depósitos de gordura da carcaça. Estas diferenças metabólicas, entre os diferentes depósitos de gordura, podem ter importantes consequências na produção animal (Hocquette et al., 2010, 2007).

As duas enzimas chave da lipogénese a partir da glucose são a ATP-citrato liase e a NADP-malato desidrogenase, por vezes também designada como enzima málica (Drackley, 2000). A síntese de AG a partir da glucose inicia-se pela transformação citoplasmática da glucose em piruvato, pela via da glicólise, seguida de descarboxilação oxidativa mitocondrial a acetil-CoA, graças à PDH (piruvato desidrogenase) (Figura 2.11). O acetil-CoA é transformado em citrato no ciclo de Krebs, por condensação com oxaloacetato. Nos tecidos onde ocorre síntese de AG algum do citrato é transportado para o citoplasma onde é utilizado como fonte de acetil-CoA.

Figura 2.11– Esquema simplificado da síntese *de novo* de ácidos gordo no tecido adiposo intramuscular.

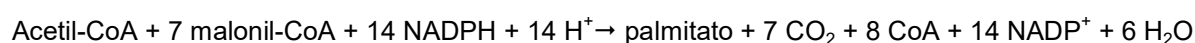


[ACC – Enzima acetil-CoA carboxilase; ATP-CL – Enzima ATP-citrato liase; GLUT4 – iso-forma 4 do transportador de glucose; EM – Enzima málica; FAS – Enzima sintetase de ácidos gordos; PDH – Enzima

No citoplasma, a ATP-citrato liase catalisa a transformação do citrato a acetil-CoA, ficando este disponível para a lipogénese. Quando isto ocorre, permite também a libertação de oxaloacetato, posteriormente convertido a malato pela NAD-malato desidrogenase. Posteriormente, a enzima málica catalisa a descarboxilação oxidativa do malato a piruvato. Este piruvato reentra para a matriz mitocondrial. O resultado final deste ciclo de reações é o transporte de acetil-CoA da matriz mitocondrial para o citoplasma. Em resultado da ação da enzima málica, ocorre também a redução do NADP^+ a NADPH, produzindo-se deste modo

uma parte do poder redutor necessário à síntese de AG (Drackley, 2000). O restante NADPH necessário é produzido a partir de glucose pela via das pentoses e a partir do iso-citrato pela via da iso-citrato desidrogenase (Lalotitis et al., 2010; Nafikov and Beitz, 2007).

A iniciação da síntese começa graças à acetil-CoA carboxilase, a enzima que catalisa a carboxilação do acetil-CoA a malonil-CoA — o verdadeiro dador de unidades acetil para o processo de elongação — e que constitui a etapa limitante da lipogénese (Drackley, 2000). A biossíntese de palmitato é catalisada pela sintetase de ácidos gordos (FAS, *fatty acid sintetase*) e é frequentemente resumida pela seguinte equação (Drackley, 2005; Lalotitis et al., 2010):



A sintetase de AG (FAS) é um complexo enzimático que consiste de duas cadeias polipeptídicas multifuncionais, cada uma contendo sete enzimas distintas necessárias à elongação do acetil-CoA até ácido palmítico (Drackley, 2000). Para além do acetil-CoA, o propionil-CoA também pode ser utilizado como precursor na síntese *de novo* de AG. Neste caso, produzem-se AG de cadeia ímpar (OCFA), normalmente com 15 ou 17 carbonos. O metil-malonil-CoA pode também substituir o malonil-CoA na reação de elongação resultando neste caso na formação de AG de cadeia ramificada (BCFA) (Drackley, 2000; Lalotitis et al., 2010).

2.4.2.2 Elongação, dessaturação e esterificação dos ácidos gordos

O principal produto final da síntese *de novo* de AG nos tecidos dos ruminantes é normalmente o ácido palmítico, podendo este constituir cerca de 20 a 30% do total de AG presente no tecido adiposo (Drackley, 2000). Nos lípidos do tecido adiposo dos ruminantes estão também presentes quantidades consideráveis de 18:0 e c9-18:1. Estes AG podem ter origem nos TAG transportados pelas lipoproteínas ou serem produzidos a partir do 16:0 por elongação e dessaturação da cadeia hidrocarbonada.

A elongação do 16:0 a 18:0 ocorre devido à ação das enzimas elongases de AG localizadas no retículo endoplasmático. O malonil-CoA é a fonte dos 2 carbonos adicionais necessários (Drackley, 2000). A concentração de 18:0 é regulada pela presença da enzima estearoil-CoA dessaturase (SCD), responsável pela conversão do 18:0 a c9-18:1, por inserção de uma dupla ligação no carbono $\Delta 9$, ou seja, o nono carbono contado a partir do grupo metilo terminal (Paton and Ntambi, 2009).

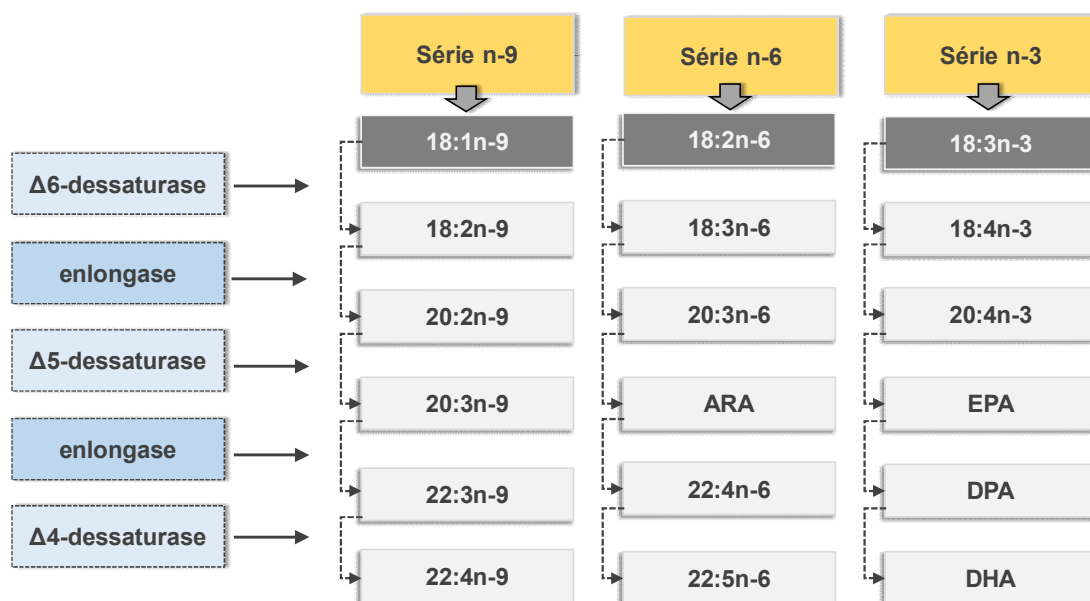
Para além do 18:0, muitos outros AG podem ser dessaturados por ação da mesma enzima (14:0, 16:0, 17:0 e t7-18:1, e provavelmente também o t13-18:1, t14-18:1 e t15-18:1)

originado c9-MUFA (Cook and McMaster, 2002) e alguns dienos c9,t_x (Bessa et al., 2015). Do mesmo modo, grande parte do c9,t_{11-18:2} presente na carne dos ruminantes resulta também da dessaturação do t_{11-18:1}. Palmquist et al. (2004) estimaram que 45 a 95% do ácido rumênico presente no músculo e no tecido adiposo de borregos seja sintetizado endogenamente. A atividade da enzima SCD aumenta à medida que o animal acumula tecido adiposo (Smith et al., 2009b) e com a alimentação com concentrados, num efeito mediado pela insulina (Daniel et al., 2004). Por outro lado, a suplementação das dietas com PUFA, principalmente com n-3 PUFA, tende a reduzir a atividade da enzima SCD (Daniel et al., 2004).

Contudo, os animais vertebrados não têm dessaturases capazes de inserir duplas ligações, quer na posição n-6, quer na posição n-3, pelo que o 18:2n-6 e o 18:3n-3 são considerados AG essenciais (Cook and McMaster, 2002). A incapacidade de os animais vertebrados sintetizarem estes AG essenciais dá origem a dois subgrupos distintos de LC-PUFA, nomeadamente os da série n-3 e n-6. Estes LC-PUFA da série n-3 e n-6 (Figura 2.12) podem ser sintetizados a partir dos respetivos precursores (18:3n-3 e 18:2n-6) através de uma série de dessaturações realizadas pelas enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ -dessaturase, comuns a ambas as séries de AG (Cook and McMaster, 2002).

A preferência das enzimas de dessaturação pelos AG precursores da série n-3, relativamente aos da série n-6, nos mamíferos é consensual (Raes et al., 2004). Por exemplo, a afinidade da enzima $\Delta 6$ D pelo 18:3n-3 é 2 a 3 vezes superior à que tem

Figura 2.12– Esquema simplificado da dessaturação e alongamento dos ácidos gordos das séries n-9, n-6 e n-3.



ARA – ácido araquidónico (20:4n-6); EPA – ácido eicosapentaenóico (20:5n-3); DPA – ácido docosapentaenóico (22:5n-3); DHA – ácido docosaheptaenóico (22:6n-3)

pelo 18:2n-6 (Cook and McMaster, 2002). Contudo, as membranas celulares dos mamíferos apresentam uma incorporação preferencial de 18:2n-6 comparativamente à de 18:3n-3 (Wood et al., 2008). Assim, a proporção de n-6 LC-PUFA é geralmente maior do que a de 18:3n-3 nos tecidos dos ruminantes, sendo que os LC-PUFA mais abundantes nos tecidos dos ruminantes são, por ordem decrescente, o 20:4n-6, o 22:5n-3 e o 20:5n-3 (Wood et al., 2008).

Na carne dos animais ruminantes, a maior parte dos AG encontram-se esterificados sob a forma de TAG ou FL. As vias metabólicas de síntese de TAG e FL são constituídas por um conjunto de 4 reações bioquímicas das quais as 3 primeiras são comuns e resultam na formação de 1,2-diacilgliceróis (Drackley, 2000). A esterificação dos AG com o glicerol ocorre na superfície citoplasmática do retículo endoplasmático (Drackley, 2000). A especificidade da distribuição dos AG nos TAG é determinada durante a esterificação do glicerol-3-fosfato com dois AG, seguida de incorporação de um terceiro AG. No tecido adiposo, os SFA, nomeadamente o 16:0 e o 18:0, são predominantemente esterificados na posição *sn*-1 enquanto a posição *sn*-2 é predominantemente ocupada por AG de cadeia curta, BCFA, AG insaturados, especialmente ácido linoleico, e isômeros *c*-18:1. Na posição *sn*-3 encontram-se esterificados principalmente LC-PUFA e isômeros *t*-18:1 (Demeyer and Doreau, 1999). Tipicamente, os glicerofosfolípidos contêm um SFA na posição *sn*-1 e um PUFA na posição *sn*-2 (Mapiye et al., 2012a).

2.4.3 Lípidos da carne

A gordura intramuscular (IMF) presente na carne consiste de lípidos neutros, principalmente sob a forma de TAG armazenados nos adipócitos localizados ao longo das fibras musculares e no espaço interfascicular, e de lípidos polares, principalmente sob a forma de FL como componentes estruturais das membranas (De Smet et al., 2004). Podem também existir lípidos presentes nas fibras musculares, sob a forma de gotículas de TAG, FL e colesterol presentes no citosol, representando estes apenas uma pequena parte do total de lípidos intramusculares.

A composição em AG da gordura intramuscular é influenciada por vários fatores genéticos e ambientais, de entre os quais o teor em AG da dieta é geralmente considerado como o mais importante. Vários trabalhos têm sido realizados de modo a modificar a composição em AG dos tecidos por via nutricional incluindo a utilização de óleos vegetais e sementes de oleaginosas, bem como produtos marinhos e forragens na alimentação de animais ruminantes (revisto por (Bessa et al., 2000; Jenkins and Bridges, 2007; Mapiye et al., 2015; Palmquist et al., 2005; Popova et al., 2015; Scollan et al., 2014; Vahmani et al., 2015). Os efeitos de fatores genéticos como a espécie, a raça e o sexo, são também responsáveis por

diferenças na composição em AG da carne, e foram revistos por De Smet et al. (2004).

De um modo geral, o teor em IMF varia entre 1 a 5 g/100 g de carne fresca e contém proporções de SFA, MUFA e PUFA que variam, respetivamente, entre 45 a 48, 35 a 45 e até 5 g/100 g do total de AG (Scollan et al., 2006). No músculo, o teor em FL é relativamente constante (0,5 a 1 g/100 g de músculo fresco, Sinclair, 2007) e menos influenciado pela espécie, raça, nutrição e idade. De um modo geral, os FL caracterizam-se pelo elevado teor em PUFA (20 a 50% do total de AG dos FL), principalmente representados por AG com 18, 20 e 22 carbonos com 2 a 6 ligações duplas (Bessa et al., 2015; Scollan et al., 2006; Wood et al., 2008). Ao contrário dos FL, o teor em TAG apresenta uma maior variação, entre 0,2 a 5 g/100 g de carne fresca, dependendo do nível de engorda, raça e localização anatómica do músculo. A maior parte dos TAG são constituídos por SFA e MUFA, enquanto os PUFA (predominantemente 18:2n-6 e 18:3n-3) variam entre 2 e 30 g/100g do total de AG dos TAG (Raes et al., 2004).

Enquanto a composição em AG da IMF em animais monogástricos, e em particular os seus TAG, são um reflexo dos AG da dieta, nos ruminantes a BH ruminal é responsável pela menor semelhança da composição em AG da IMF com a da dieta. Em resultado do processo de BH ruminal, como vimos anteriormente, produzem-se diversos intermediários da BH que são depositados preferencialmente ou na fração neutra (*i.e.*, TAG) ou na fração polar (*i.e.*, FL) da IMF. Assim, os *trans*-C18 (AG C18 com pelo menos uma ligação dupla com configuração *trans*), em particular o *t*11-18:1 e o *c*9,*t*11-18:2, bem como o produto final da BH ruminal, o 18:0, são preferencialmente depositados nos TAG enquanto os isómeros *cis* se depositam preferencialmente nos FL (Jerónimo et al., 2011).

Devido à deposição preferencial de 18:2n-6 nos FL e a uma distribuição mais equitativa do 18:3n-3 entre FL e TAG, o rácio 18:2n-6/18:3n-3 é geralmente maior nos FL das membranas celulares pelo que o rácio n-6:n-3 nos lípidos totais pode variar dependendo do rácio n-6:n-3 das frações FL e TAG. Por este facto, o rácio n-6:n-3 é muito mais influenciado pela alimentação do que pela genética (Raes et al., 2004). O teor de gordura da carne tem um efeito sobre a composição em AG que é independente da espécie, da raça e dos fatores alimentares. À medida que um animal engorda, o teor em SFA aumenta proporcionalmente mais do que o de PUFA, levando a uma diminuição na proporção relativa de PUFA e consequentemente no rácio P:S (De Smet et al., 2004). Este efeito do estado de engorda sobre o rácio P:S deve-se às grandes diferenças na composição em AG das principais frações lipídicas (TAG e FL), como vimos anteriormente, e da contribuição de cada uma delas para o total de lípidos (De Smet et al., 2004).

2.5 Lípidos e qualidade sensorial da carne de ruminantes

Os lípidos e os AG neles contidos estão envolvidos em várias propriedades físico-químicas da carne, contribuindo não só para os seus atributos nutricionais, mas também para as suas propriedades sensoriais.

As propriedades sensoriais da carne referem-se às características que podem ser avaliadas através dos sentidos: cor, tenrura, suculência e *flavour*. Estas propriedades dependem da composição e das propriedades estruturais do músculo, nomeadamente dos seus componentes principais como as fibras musculares, o tecido conjuntivo e os lípidos intramusculares (Lebret and Picard, 2015).

2.5.1 Cor, oxidação lipídica e tempo de prateleira da carne

A cor da carne fresca assume particular importância para o consumidor na medida em que é o primeiro atributo de qualidade avaliado no momento da compra, sendo interpretada como sinal de frescura e de qualidade (Lebret and Picard, 2015; Mancini and Hunt, 2005; Suman and Joseph, 2013). Embora a cor da carne esteja pouco relacionada com a qualidade experimentada, o consumidor exige que a carne, dependendo da espécie, apresente no momento da compra determinada cor (Priolo et al., 2001). No caso da carne de borrego, uma cor vermelha rosada brilhante (Calnan et al., 2016).

A quantidade e a distribuição da gordura inter e intramuscular também influenciam a avaliação do consumidor no momento da compra, sendo depreciada a carne que apresenta uma grande quantidade de gordura visível, apesar da influência positiva que pode apresentar noutras características sensoriais da carne. A cor do tecido adiposo pode variar de branco a amarelo-alaranjado sendo a variação devida, principalmente, ao tipo de alimento consumido (forragem vs. concentrado) e à capacidade biológica do animal para converter os compostos lipossolúveis como, por exemplo, os carotenos, amarelos, noutros compostos como a vitamina A, praticamente desprovida de cor (Daley et al., 2010; Troy and Kerry, 2010). A cor amarelada não afeta a palatabilidade do produto cozinhado embora seja considerada indesejável por alguns consumidores que a associam, erradamente, com animais velhos, mal nutridos ou doentes (Troy and Kerry, 2010).

A avaliação objetiva da cor da carne é frequentemente realizada utilizando o sistema CIE (AMSA, 2012). De acordo com este sistema, as três coordenadas fundamentais da cor são L^* , a^* e b^* , sendo que L^* mede a luminosidade, avaliando a luz refletida (100=branco; 0=preto), a^* mede o vermelho (valores positivos) e o verde (valores negativos) e b^* mede o amarelo (valores positivos) e o azul (valores negativos) (AMSA, 2012; Muchenje et al., 2009).

A cor das carnes vermelhas depende maioritariamente da concentração e do estado

químico da mioglobina, com contributos menores da hemoglobina e citocromo c (Li and Liu, 2012; Muchenje et al., 2009; Suman and Joseph, 2013). A concentração em mioglobina varia entre espécies e entre animais da mesma espécie, sendo afetada por fatores como a idade, atividade física e dieta, bem como por fatores genéticos e ambientais (Priolo et al., 2001; Troy and Kerry, 2010).

A mioglobina pode existir numa de três formas: desoximioglobina, oximioglobina ou metamioglobina. A interconversão entre os três estados do pigmento depende das condições presentes no músculo (Geay et al., 2002; Hocquette et al., 2005b). A desoximioglobina, frequentemente referida como mioglobina ou mioglobina reduzida, contém ferro no estado ferroso (Fe^{2+}). Tem uma cor vermelho púrpura e é característica da cor de um músculo acabado de cortar ou de carne embalada a vácuo (Geay et al., 2001). A oximioglobina, pigmento de cor vermelho-cereja, forma-se rapidamente após a exposição ao ar (Suman and Joseph, 2013) o que é avaliado de forma objetiva pela coordenada a^* (Muchenje et al., 2009).

Nas carnes vermelhas, a oximioglobina transmite a cor que o consumidor associa com frescura (Troy and Kerry, 2010). A cor das carnes vermelhas tem um tempo de vida relativamente curto pelo que, quer a desoximioglobina quer a oximioglobina, são rapidamente oxidadas a metamioglobina, na qual o ferro heme oxidado se encontra no estado férrico (Fe^{3+}) (Troy and Kerry, 2010). A metamioglobina dá à carne uma cor acastanhada que o consumidor associa com falta de frescura, considerando-a inaceitável para consumo (Geay et al., 2001; Hocquette et al., 2005b).

São vários os fatores que contribuem para a descoloração da carne durante o armazenamento, sendo que a taxa de acumulação de metamioglobina depende de fatores intrínsecos, como pH do músculo, tipo de fibra muscular, presença de antioxidantes, oxidação lipídica, atividade mitocondrial, idade, raça e sexo do animal, bem como de fatores extrínsecos associados com as condições de pré e pós abate (Suman and Joseph, 2013). Adicionalmente, as condições ambientais durante a comercialização (temperatura, disponibilidade de O_2 , tipo de luz, crescimento microbiano e atmosfera das embalagens) influenciam o tempo de prateleira da carne (Hocquette et al., 2005b; Mancini and Hunt, 2005).

A oxidação dos lípidos é um processo indesejável na carne e que ocorre de forma continua durante o armazenamento, levando ao desenvolvimento de odores rancificados e *off-flavour*, ao aumento de exsudados, descoloração, perda de valor nutritivo, diminuição do tempo de prateleira e acumulação de compostos tóxicos potencialmente prejudiciais para a saúde do consumidor (Falowo et al., 2014). A taxa e a extensão da oxidação lipídica são influenciadas por diversos fatores, como o teor em ferro, perfil de AG, pH e nível de antioxidantes presentes na carne (Falowo et al., 2014) dependendo também da espécie e da raça do

animal bem como do tipo de músculo e da sua localização anatômica.

A taxa e a extensão da oxidação dos lípidos têm sido associadas com o aumento do grau de insaturação dos AG presentes na carne (Li and Liu, 2012). O ácido linoleico por exemplo, é oxidado 10 vezes mais depressa que o ácido oleico e o ácido linolénico é oxidado 20 a 30 vezes mais depressa do que o ácido oleico (Li and Liu, 2012). O potencial oxidativo limita as estratégias que podem ser usadas para melhorar os níveis de n-3 PUFA na carne, uma vez que o aumento do potencial oxidativo pode limitar o tempo de prateleira e, assim, a aceitabilidade por parte do consumidor. Segundo Wood et al. (1999, 2003) apenas quando a concentração de 18:3n-3 atinge valores de pelo menos 3% do total de lípidos são observados efeitos adversos sobre a oxidação dos lípidos e da mioglobina e o *flavour* da carne. Contudo, investigações recentes indicam que o nível de n-3 PUFA por si só não aumenta o potencial oxidativo da carne, uma vez que este depende também da concentração de antioxidantes e da disponibilidade de ferro heme no músculo. Ponnampalam et al. (2014) demonstraram que a concentração em vitamina E no músculo tem uma maior influencia no controlo da oxidação lipídica do que o ferro heme ou os PUFA presentes no tecido muscular.

De modo a melhorar a estabilidade da cor e dos lípidos presentes na carne é essencial, de acordo com Li and Liu (2012), reduzir de forma simultânea a oxidação da mioglobina e a oxidação lipídica. Para atingir este objetivo será, por isso, importante conciliar diferentes abordagens devido ao carácter hidrofílico e hidrofóbico, respetivamente, da mioglobina e dos lípidos. Este facto tem levado à procura de formas de proteger os PUFA da carne através da utilização de antioxidantes, nomeadamente vitamina E (Daley et al., 2010; Ponnampalam et al., 2014). A inclusão de plantas ou extratos de plantas naturalmente ricos em substâncias antioxidantes nas dietas dos animais tem sido referida por alguns autores (por exemplo, Falowo et al., 2014; Li and Liu, 2012) como uma forma de melhorar a estabilidade oxidativa da carne permitindo adicionalmente melhorar, de um modo geral, as características de qualidade da carne. A concentração destes antioxidantes naturais varia consideravelmente entre plantas (Falowo et al., 2014). A suplementação simultânea de compostos polifenólicos e α -tocoferol pode, neste contexto, ser uma abordagem eficiente e económica (Li and Liu, 2012).

Assim, a descoloração da carne ocorre por vezes em resultado da combinação da oxidação dos pigmentos (oximioglobina a metamioglobina) com a oxidação dos fosfolípidos das membranas, pelo que, associado à descoloração da carne, ocorre uma diminuição da estabilidade oxidativa dos lípidos que resulta no desenvolvimento de *flavours* indesejáveis (Bekhit et al., 2013; Falowo et al., 2014).

2.5.2 *Flavour* e suculência da carne

A gordura intramuscular (IMF) afeta também o *flavour*, a suculência e a tenrura da carne pelo que o aumento da IMF está, normalmente, associado com um aumento da palatibilidade (Hocquette et al., 2010; Troy and Kerry, 2010; Wood et al., 2008). Contudo, a melhoria da palatibilidade com o aumento da percentagem de IMF não é igual para todos os níveis de gordura, sendo que níveis que excedem os 7,3% na carne fresca têm sido identificados como altos por consumidores conscientes do impacto do consumo excessivo de gordura sobre a saúde. Deste modo, são considerados como aceitáveis níveis de IMF entre 3 e 7,3% na carne fresca (Troy and Kerry, 2010). No caso da carne ovina, segundo Hocquette et al. (2010) são necessários pelo menos 5% de IMF na carne fresca para uma adequada experiência sensorial por parte do consumidor. As preferências por carne com maior ou menor IMF dependem, contudo, dos mercados. Em alguns países (EUA e Canadá, por exemplo) o grau de marmoreado da carne bovina, por exemplo, determina a classificação da qualidade das carcaças. No entanto, a contribuição da gordura IMF para a palatibilidade da carne bovina não é elevada, justificando apenas 10-15% da variância na palatibilidade (Hocquette et al., 2010).

O *flavour* da carne é o resultado da estimulação de dois sentidos, o gosto e o olfato (Lebret and Picard, 2015). Outras sensações, como a adstringência, a suculência e o *bouquet* (textura + *flavour*) são também importantes para a palatibilidade global da carne (Geay et al., 2002). O odor da carne é produzido por compostos voláteis de baixo peso molecular que estimulam os recetores do epitélio nasal. O sabor é geralmente produzido por substâncias solúveis em água de peso molecular mais elevado que os compostos voláteis anteriores. Para além destes, outros compostos, muitas vezes desprovidos de sabor, são importantes na potenciação do odor e do sabor da carne. É caso do ácido glutâmico, do glutamato de sódio e do ácido inosínico (Geay et al., 2001). A carne crua praticamente não tem sabor, para além do característico sabor a sangue, ligeiramente metálico. Os efeitos dos AG no *flavour* da carne são devidos à produção de compostos voláteis, odoríferos, resultantes da oxidação térmica dos lípidos durante a sua preparação culinária, e ao envolvimento destes com produtos das reações de Maillard, entre os aminoácidos e os açúcares redutores. Neste contexto, os AG dos FL são particularmente importantes no desenvolvimento dos *flavours* característicos de cada espécie (Wood et al., 2003).

As estratégias que visam alterar o perfil de AG da fração lipídica da carne podem alterar a quantidade e o tipo de compostos voláteis produzidos e consequentemente, o seu aroma e *flavour* (Elmore et al., 2005; Enser, 1999), atributos da carne importantes na aceitação por parte do consumidor (Wood et al., 1999) e em particular no caso da carne de borregos (Prache and Bauchart, 2015). Por exemplo, a alimentação com dietas à base de alimentos

concentrados resulta num aumento da concentração de n-6 PUFA, comparativamente a animais alimentados com dietas à base de forragem que resultam num aumento da concentração de n-3 PUFA (Santos-Silva et al., 2002a).

A preferência por carne proveniente de animais alimentados com dietas à base de cereais ou pastagem parece depender das experiências anteriores, dos hábitos e das práticas culturais dos indivíduos (Montossi et al., 2013). No trabalho de Sañudo et al. (1998) o painel de provadores espanhol identificou os borregos britânicos, alimentados com dietas à base de pastagem, como apresentando *flavours* mais intensos, mais pronunciados, preferindo o *flavour* dos borregos espanhóis, mais jovens e alimentados com dietas à base de concentrado. Em geral, a carne de borregos alimentados com dietas à base de pastagem apresenta teores mais elevados de escatol e mais *off-flavours*, produzindo odores e *flavour* intensos, comparativamente a animais alimentados com dietas à base de alimentos concentrados (Prache and Bauchart, 2015). Por outro lado, a carne de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado é muitas vezes referida como sendo mais tenra e com um odor e *flavour* mais apreciado (Montossi et al., 2013). Deste modo, embora o aumento dos níveis de n-3 PUFA na gordura intramuscular seja, do ponto de vista nutricional, altamente desejável, do ponto de vista da qualidade sensorial pode resultar numa carne com reduzida aceitação por parte dos consumidores se a incorporação de n-3 PUFA for excessiva (Elmore et al., 2005).

A capacidade de retenção de água da carne define-se como a maior ou menor capacidade de fixação de água nas cadeias de actina-miosina do músculo e que se traduz, no momento da mastigação, na sensação de maior ou menor suculência da carne. A suculência da carne produz duas sensações em momentos distintos durante o consumo de carne: num período inicial, a sensação de humidade na boca, em resultados da libertação de sucos da carne e posteriormente, devido ao efeito estimulante da gordura sobre a secreção salivar (Lebret and Picard, 2015), pelo que a quantidade de IMF presente na carne é considerado um fator determinante da suculência da carne. Deste modo, a suculência relaciona-se positivamente com a capacidade de retenção de água e com o teor em IMF da carne. O teor em IMF afeta diretamente a suculência bem como o *flavour* da carne (Hocquette et al., 2010) pelo que a percepção de suculência do consumidor geralmente aumenta à medida que o teor em IMF da carne aumenta.

2.5.3 Tenrura da carne

As variações na tenrura da carne resultam principalmente de alterações da estrutura proteica das miofibrilas musculares no período entre o abate e o consumo da carne (Wood et al., 1999). A possível relação entre tenrura e composição da carne é um assunto em

debate há muitos anos, e a este respeito iremos dar atenção ao efeito do teor de gordura neste importante parâmetro da qualidade sensorial da carne. Embora tenha sido sugerido que o perfil de AG da carne possa afetar a sua tenrura, o efeito parece dever-se mais à quantidade de lípidos, e ao total de AG, do que à presença de determinado AG em particular (Wood et al., 2003).

À medida que a gordura aumenta no animal, vai-se depositando simultaneamente em diferentes localizações do corpo, o que pode ser importante na determinação da tenrura da carne. Primeiro acumula-se nos depósitos subcutâneos e intermusculares, onde pode constituir um isolamento dos músculos contra os efeitos da refrigeração à medida que as carcaças são arrefecidas. Este papel isolante da gordura parece explicar a maior dureza da carne proveniente de carcaças magras de borrego (Priolo et al., 2001). Segundo, acumula-se no músculo sob a forma de gordura intramuscular.

Quando a carne apresentam uma elevada deposição de gordura é possível que o músculo apresente uma menor resistência ao corte por diluição e abertura das fibras musculares com gordura (Hocquette et al., 2010; Wood et al., 1999, 2003). Nos EUA, onde a gordura intramuscular (por vezes designada por marmoreado) em bovinos de carne se situa entre 20 e 80 mg/g de músculo, foi mostrado que são necessários valores 30 mg de gordura/g de músculo para uma adequada tenrura da carne (Enser, 1999). Na Europa, contudo, os níveis de IMF são mais baixos e pouco variáveis tornando difícil encontrar relações estatísticas significativas entre as duas variáveis.

O tipo de AG presentes na carne influencia a firmeza da gordura (Smith et al., 2006), pelo que a presença de teores elevados de 18:3n-3 em conjugação com baixos teores de 18:0 tende a produzir uma gordura mais mole comparativamente a gorduras mais ricas em AG com um maior grau de saturação (Smith et al., 2009a; Wood and Enser, 1997). O c9-18:1 está também associado com uma menor firmeza da gordura embora apresente uma relação positiva com o *flavour* da carne (Smith et al., 2009a). O efeito dos AG na firmeza da gordura deve-se aos diferentes pontos de fusão que os AG presentes na carne possuem. De entre os AG C18, o ácido esteárico (18:0) funde a 69,6°C, o ácido oleico (c9-18:1) a 13,4°C, o 18:2n-6 a -5°C e o 18:3n-3 a -11°C (Wood et al., 2003). Assim, à medida que o grau de insaturação aumenta, o ponto de fusão diminui. Para além do grau de insaturação, as variações na estrutura da molécula do AG também são importantes. Por exemplo, os AG *trans* fundem a temperaturas mais elevadas do que os seus isómeros *cis* e os AG de cadeia ramificada têm pontos de fusão mais baixos do que os AG de cadeia linear com o mesmo número de átomos de carbono (Wood et al., 2003).

CAPÍTULO 3

Efeito do nível de amido e da sua degradabilidade ruminal sobre o perfil de ácidos gordos dos conteúdos digestivos e das bactérias mistas do rúmen

Maria A. Oliveira ^{a,b}, Susana P. Alves ^{a,c}, José Santos-Silva ^{c,d}, Rui J.B. Bessa ^{a,c}

^a Faculdade de Medicina Veterinária, ULisboa, 1300-477 Lisboa, Portugal

^b Escola Superior Agrária de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 3045-601 Coimbra, Portugal

^c CIISA, Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal

^d Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção Animal e Saúde (UEISPSA-INIAV), 2005-048 Vale de Santarém, Portugal

Este capítulo baseou-se nos resultados a serem publicados no seguinte artigo científico que se encontra em preparação:

Oliveira, MA; Alves, SP; Santos-Silva, J; Bessa, RJB. (2017). Effect of dietary starch level and rumen degradability on digestive contents and rumen mixed bacteria fatty acid profile.

Contribuição de M A Oliveira para este artigo:

MA Oliveira formulou os alimentos compostos utilizados, realizou o ensaio de alimentação e participou no abate dos borregos e na colheita de amostras. Procedeu à extração dos AG do conteúdo abomasal, conteúdo ruminal e bactérias mistas ruminais e participou de forma ativa na interpretação dos respetivos cromatogramas. Realizou a análise estatística dos dados, interpretou e discutiu os resultados, e procedeu à escrita do artigo.

Efeito do nível de amido e da sua degradabilidade ruminal sobre o perfil de ácidos gordos dos conteúdos digestivos e das bactérias mistas do rúmen

M.A. Oliveira, S.P. Alves, J. Santos-Silva, R.J.B. Bessa

Resumo

Colocámos como hipótese que quer o nível de amido quer a degradabilidade ruminal do amido podem afetar a magnitude do *shiftrans*-10. Foi realizado um ensaio de alimentação onde borregos foram alimentados com dietas à base de alimento concentrado suplementadas com uma mistura de óleo de linhaça e girassol (60 g/kg de MS; 2:1, v/v) diferindo no nível de amido (médio, ≈ 35 vs. alto, $\approx 50\%$) e na degradabilidade ruminal do amido (média, ≈ 70 vs. alta, $\approx 80\%$). Procedeu-se à colheita de amostras do conteúdo ruminal, bactérias mistas ruminais e digesta abomasal para caracterização do teor e perfil em AG. Os AG C18 foram também utilizados para estimar a completude da BH bem como a extensão da BH do 18:2n-6 e 18:3n-3. O teor em DMA e BCFA foram utilizados para estimar a densidade da biomassa bacteriana ruminal.

A redução do nível de amido influenciou os parâmetros fermentativos do rúmen, resultando em proporções mais elevadas de acetato e mais baixas de propionato. O aumento dos SFA (12:0 a 16:0) com a redução do nível de amido por inclusão de polpa de citrinos sugere um efeito menos inibidor sobre a síntese *de novo*. As alterações observadas nos parâmetros fermentativos do rúmen bem como o aumento dos i-BCFA com a redução do nível de amido sugerem um aumento no nível ou na atividade das bactérias fibrolíticas. Não foi, no entanto, observado qualquer efeito dos tratamentos sobre a completude da BH ou sobre a extensão da BH do 18:2n-6 ou 18:3n-3. A redução do $t_{10-18:1}$ apresentou uma relação significativa com a completude da BH ruminal.

O efeito da degradabilidade do amido foi menos evidente nos conteúdos digestivos, tendo sido apenas observados efeitos significativos nas BMR que sugerem que a redução da degradabilidade do amido terá reduzido a primeira isomerização do processo de BH ruminal dos AG C18.

Os resultados aqui apresentados sugerem que as estratégias para aumentar a disponibilidade de $t_{11-18:1}$ para absorção e mitigar o *shiftrans*-10 na produção intensiva de borregos suplementados com óleos vegetais ricos em PUFA deve ser dirigido para a redução da ingestão de amido e não tanto para a utilização de fontes de amido de baixa degradabilidade ruminal.

Palavras-chave: borrego; degradabilidade do amido; nível de amido; ácidos gordos; biohidrogenação ruminal.

3.1 Introdução

O rúmen apresenta um complexo ecossistema microbiano responsável pela extensa fermentação dos nutrientes contidos nos alimentos, incluindo a degradação da fibra. Através de uma série de reações de isomerização e hidrogenação, coletivamente designadas por biohidrogenação (BH), a microbiota ruminal converte os AG insaturados da dieta principalmente em ácido esteárico (18:0) (Demeyer and Doreau, 1999). Contudo, o processo de BH ruminal é sempre incompleto pelo que diversos intermediários da BH como os isómeros conjugados de ácido linoleico (CLA) e ácidos *trans*-octadecenoicos também fluem do rúmen (Bauman et al., 1999).

A dieta tem um importante papel no consórcio microbiano que se estabelece no rúmen, afetando o metabolismo ruminal dos lípidos, em particular o padrão de intermediários gerados pela BH (Harfoot and Hazlewood, 1997). Nos sistemas intensivos de produção de carne de ruminantes, os animais são frequentemente sujeitos a um período de acabamento durante o qual são alimentados com dietas à base de cereais, de modo a obter elevadas taxas de crescimento e atingir elevadas eficiências alimentares. Este tipo de dietas leva a uma alteração das vias de BH que conduz à substituição do *t*11-18:1 pelo *t*10-18:1 como principal intermediário da BH (*i.e.*, *shift trans*-10) (Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015). A ocorrência desta via alternativa da BH ruminal em animais engordados de forma intensiva representa um constrangimento que limita qualquer tentativa de enriquecimento da carne de animais ruminantes em CLA (Bessa et al., 2015).

Para além da clara associação do *shifttrans*-10 com dietas ricas em amido e em PUFA, pouco se sabe sobre outros factores da dieta que determinem o *shift trans*-10 no rúmen (Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015; Zened et al., 2013b). O tipo de amido, em particular a sua cinética de degradação ruminal (*i.e.*, degradabilidade ruminal), pode ter um papel importante na indução dos *shifttrans*-10 das vias de BH ruminal (Jurjan et al., 2004). Para além disso, o tipo de hidratos de carbono presentes na fração hidratos de carbono não fibrosos pode variar (Hall et al., 1998). Trabalhos anteriores sugerem que a substituição de cereais por NDF, pectinas ou açúcares (Avila-Stagno et al., 2013; Dugan et al., 2010; Lanza, 2015; Martel et al., 2011) pode diminuir a produção de *t*10-18:1 e aumentar a de *t*11-18:1.

Colocámos como hipótese que quer o nível de amido da dieta quer a degradabilidade ruminal do amido afetam a magnitude do *shift trans*-10 das vias de BH ruminal. Assim, foi planeado um ensaio com borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado suplementadas com óleos vegetais de modo a estudar o efeito da degradabilidade ruminal e do nível de amido. Os resultados relativos ao desempenho produtivo dos animais e ao perfil de AG da carne serão apresentados posteriormente (Capítulo 4 de acordo com Oliveira et al., 2017). Embora o *shift trans*-10 que ocorre no rúmen possa ser indiretamente avaliado a

partir da composição em AG da carne, as alterações que ocorrem na BH ruminal podem ser melhor avaliadas através da determinação da composição em AG dos conteúdos digestivos. Para além disso, existe pouca informação relativa à composição das bactérias mistas ruminais quando se estabelece um claro *shift trans*-10 no rúmen.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Animais e dietas

Quarenta borregos machos da raça Merino Branco, com um peso vivo (PV) médio inicial de 20,9 (\pm 0,89) kg foram aleatoriamente distribuídos por 20 parques com chão ripado. Este ensaio foi realizado no ovil da ESAC-IPC, Portugal, onde os borregos foram mantidos dois a dois em cada parque durante 5 semanas e seguindo as recomendações da Diretiva 2010/63/UE relativa aos cuidados com os animais. Os borregos foram sujeitos a uma semana de adaptação às dietas e às condições experimentais, durante a qual foram desparasitados com Ivomec® 10 mg/mL (Merial Portuguesa, Portugal) e Vecoxan® 2,5 mg/mL (ESTEVE veterinária, Espanha).

Foram formulados 4 alimentos compostos de acordo com as recomendações nutricionais da FEDNA para borregos de engorda (Ferret et al., 2008), considerando 2 níveis de amido (30 vs. 50% de amido, em % da MS) e 2 níveis de degradabilidade ruminal (70 vs. 80%). A degradabilidade ruminal efetiva do amido das dietas foi estimada a partir de valores tabelados para os ingredientes que compunham os alimentos compostos (Sauvant et al., 2002) e considerando uma taxa de passagem ruminal de 0,07/h, de acordo com dados experimentais obtidos com borregos sujeitos a dietas semelhantes (Bodas et al., 2009). As diferenças no nível de amido das dietas foram conseguidas basicamente por substituição parcial dos cereais por polpa de citrinos desidratada enquanto as diferenças na degradabilidade ruminal foram obtidas alterando as proporções de milho e de trigo nas dietas. Assim, as quatro dietas utilizadas foram MSMD (nível médio de amido, 35%; degradabilidade ruminal média do amido, 70%), MSHD (nível médio de amido, 35%; degradabilidade ruminal alta do amido, 80%), HSMD (nível alto de amido, 50%; degradabilidade ruminal média do amido, 70%) e HSHD (nível alto de amido, 50%; degradabilidade ruminal alto do amido, 80%).

Os alimentos compostos granulados foram produzidos numa empresa de alimentos compostos comerciais e a mistura de óleos (6% de uma mistura de óleo de linhaça e girassol, 2:1), foi adicionada posteriormente num misturador vertical. Os ingredientes e a composição química dos alimentos compostos e do feno utilizados são apresentados na Tabela 3.1.

A cada dieta foram atribuídos aleatoriamente 5 parques. Os borregos foram pesados no

Tabela 3.1– Ingredientes (g/kg de alimento), composição química (g/kg MS) e perfil de ácidos gordos (g/kg AG totais) dos alimentos compostos e do feno utilizados no ensaio de alimentação de borregos.

| | Alimentos compostos ¹ | | | | Feno |
|---|----------------------------------|------|------|------|------|
| | MSMD | MSHD | HSMD | HSHD | |
| Ingredientes (g/kg de alimento) | | | | | |
| Milho | 208 | 47 | 448 | 253 | - |
| Trigo | 115 | 304 | 290 | 470 | - |
| Cevada | - | - | - | 29 | - |
| Corn gluten meal | 127 | 83 | 92 | 96 | - |
| Farinha forrageira de milho | 124 | 113 | - | - | - |
| Bagaço de soja | 9 | 19 | 47 | 14 | - |
| Bagaço de palmiste | 106 | 99 | - | - | - |
| Semente de soja | 23 | 48 | 15 | 29 | - |
| Polpa de citrinos desidratada | 181 | 178 | - | - | - |
| Mistura de óleos ² | 60 | 60 | 60 | 60 | - |
| Outros ³ | 49 | 49 | 49 | 49 | - |
| Degradabilidade ruminal do amido ⁴ | 69,1 | 82,1 | 73,2 | 82,0 | - |
| Composição química (g/kg MS) | | | | | |
| Matéria seca (MS) | 925 | 922 | 898 | 910 | 853 |
| Proteína bruta | 150 | 157 | 167 | 158 | 56,9 |
| Amido | 350 | 350 | 477 | 518 | 26,4 |
| Amido degradável no rúmen | 242 | 287 | 349 | 425 | - |
| NDF | 156 | 161 | 151 | 165 | 672 |
| ADF | 129 | 115 | 45,8 | 63,6 | 431 |
| AG totais | 75,1 | 66,9 | 67,4 | 64,6 | 8,07 |
| Composição em AG (g/kg AG totais) | | | | | |
| 16:0 | 99 | 105 | 101 | 100 | 475 |
| 18:0 | 43 | 51 | 42 | 49 | 58 |
| c9-18:1 | 254 | 245 | 253 | 244 | 116 |
| c11-18:1 | 8,4 | 8,5 | 8,3 | 7,6 | 12 |
| 18:2n-6 | 268 | 275 | 274 | 285 | 147 |
| 18:3n-3 | 328 | 316 | 321 | 314 | 192 |

¹– Alimentos compostos:MSMD = nível médio de amido, degradabilidade ruminal média do amido, MSHD = nível médio de amido, degradabilidade ruminal alta do amido, HSMD = nível alto de amido, degradabilidade ruminal média do amido HSHD = nível alto de amido, degradabilidade ruminal alta do amido;² – Mistura de óleos = 2 partes de óleo de linhaça+ 1 parte de óleo de girassol;³ – Outros - Todos os alimentos compostos continham melaço de cana = 19 g/kg, lignosulfonato (Lignobond - Borregaard LignoTech, Norway) = 6 g/kg, Carbonato de cálcio = 12 g/kg, Bicarbonato de sódio = 5 g/kg, Sal = 4 g/kg, Minerais e vitaminas = 3 g/kg;⁴ – Degradabilidade efetiva do amido (%) estimada a partir da composição em tabela para um k=0,07.

início do ensaio e depois semanalmente antes da administração de alimento. Os borregos foram alimentados uma vez por dia (às 9:00) com uma dieta contendo 90% de alimento concentrado e 10% de feno. A proporção desejada de concentrado:forragem foi mantida ajustando diariamente as quantidades de forragem e alimento concentrado fornecidos, dependendo da composição do refugo do dia anterior. O feno e o alimento composto foram administrados em comedouros separados. As dietas foram fornecidas *ad libitum* (110% do consumo observado no dia anterior). Os valores do consumo individual de alimento foram calculados como metade do consumo diário em cada parque.

3.2.2 Colheita de amostras

Após 5 semanas de ensaio, os borregos foram transportados para o matadouro

experimental do UEISPSA-INIAV, no Vale de Santarém, para serem abatidos. Os animais chegaram 48 horas antes do primeiro dia de abates e foram alojados em 4 parques de acordo com a sua distribuição pelos tratamentos, continuando a ser alimentados com as dietas anteriores.

Procedendo-se ao abate dos borregos, sem jejum, em dois dias consecutivos por atordoamento e sangramento. Imediatamente após o abate foram recolhidas amostras da digesta abomasal e do conteúdo ruminal. As amostras de conteúdo ruminal e da digesta abomasal recolhidas (≈ 50 mL) foram congeladas, liofilizadas e armazenadas a -20°C até posterior análise. Outro grupo de amostras de conteúdo ruminal (cerca de 500 mL) foi filtrado através de 4 camadas de gaze e subamostras transferidas para um pequeno recipiente para avaliação do pH ruminal. Subamostras de 4 mL de conteúdo ruminal filtrado foram transferidas para tubos contendo 80 μL de MgCl_2 (solução saturada) para análise de ácidos gordos voláteis (AGV). As amostras foram imediatamente armazenadas a -20°C até posterior análise.

Para as bactérias mistas ruminais, 1 L de conteúdo ruminal foi recolhido individualmente em 4 borregos de cada dieta. As amostras do conteúdo ruminal foram misturadas com 500 mL de solução salina (NaCl 0,85%) a 39°C com a ajuda de um misturador durante 1 min e filtradas através de 4 camadas de gaze. O resíduo sólido obtido foi re-suspendido com 2 vezes o seu peso de solução salina a 39°C com a ajuda de um misturador de modo a destacar os microrganismos das partículas de alimento. A suspensão foi de novo filtrada através de 8 camadas de gaze e a fase líquida de ambas as filtrações foi homogeneizada. A fração líquida foi centrifugada a 500 g durante 5 min. O sobrenadante foi centrifugado a 20.000 g durante 20 min. O resíduo foi re-suspendido por duas vezes com solução salina e centrifugado a 20.000 g durante 20 min. O sobrenadante foi congelado, liofilizado e armazenado a -20°C até posterior análise.

3.2.3 Métodos analíticos

Amostras dos alimentos distribuídos aos animais foram recolhidas semanalmente (± 1 kg), homogeneizadas e uma subamostra (± 1 kg) foi moída (crivo de 1 mm). As amostras de alimento foram analisadas para matéria seca (ISO 6496, 1999), cinza bruta (ISO 5984, 2002), proteína bruta (ISO 5983, 1997), amido (Clegg, 1956) e fibra ácido detergente (ADF) (Van Soest et al., 1991). O teor em fibra neutro detergente (NDF) foi determinado utilizando o procedimento descrito por Mertens et al. (2002), sem adição de sulfito de sódio ou α -amilase, e os resultados foram expressos incluindo o resíduo de cinzas.

Os esteres metílicos dos AG (FAME) dos lípidos contidos nas amostras da digesta abomasal, fluido ruminal e bactérias mistas ruminais(BMR) foram preparados através de um

procedimento de metilação em dois passos, utilizando metóxido de sódio e HCl metanólico, adaptado de Jenkins (2010). O ácido nonadecanóico (19:0) foi adicionado no início do processo de metilação e utilizado como padrão interno.

Os FAME das amostras da digesta abomasal, fluido ruminal e BMR foram analisados por cromatografia gasosa utilizando o equipamento Shimadzu 2010Plus (Shimadzu, Kyoto, Japan), equipado com um detetor de chama ionizável e uma coluna capilar de sílica fundida (TR-CN100, 100 m, 0,2 mm de diâmetro interno e um filme de 0,20 µm de espessura; Teknokroma, Barcelona, Spain). As temperaturas do injetor e do detetor foram mantidas a 250°C. A temperatura inicial do forno foi mantida a 50°C durante 1 min, aumentada à razão de 50°C/min até aos 150°C, temperatura que se manteve durante 20 min, depois aumentada à razão de 1°C/min até aos 190°C e posteriormente aumentada à razão de 2°C/min até aos 220°C, temperatura que foi mantida durante 18 min. Como gás de arraste foi utilizado hélio à razão de 1 mL/min tendo sido injetadas amostras de 1 µL. Adicionalmente, as amostras foram analisadas utilizando uma coluna capilar SLB-IL111 (Supelco Inc., Bellefont, PA, USA) de modo a separar o isómero *t*10,c15-18:2 do isómero *t*11,c15-18:2, de acordo com o descrito por Alves and Bessa(2014), e o isómero *c*9,*t*11-18:2 do isómero *t*7,c9-18:2, de acordo com o descrito por Turner et al. (2011).

A identificação dos FAME foi realizada por comparação dos seus tempos de retenção com os de uma mistura de padrões comercial (FAME mix 37 componentes da Supelco Inc., Bellefont, PA, EUA) e por cromatografia gasosa com deteção por espectrometria de massa utilizando o equipamento Shimadzu GC-MS QP2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japan).

As amostras filtradas de fluido ruminal (1 mL) utilizadas para análise dos AGV, foram preparadas adicionando 170 µL de uma solução de ácido ortofosfórico (25%, v/v) e 130 µL de um padrão interno (i-6:0 a 50 mmol/L) e depois centrifugadas a 15000 g durante 15 min. O sobrenadante foi analisado para AGV utilizando um equipamento de cromatografia gasosa, Shimadzu 2010Plus (Shimadzu, Kyoto, Japan), equipado com um detetor de chama ionizável e uma coluna capilar de sílica fundida (Nukol, Supelco, Bellefonte, PA, USA) com 30 m, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura da camada da fase estacionária. O gás hélio foi utilizado como gás de arraste tendo sido utilizado um *split ratio* de 1:50. As temperaturas do injetor e do detetor foram de 250°C e de 280°C, respetivamente. A coluna funcionou isotermicamente a 180°C durante 10 min. Os AGV foram quantificados utilizando curvas de calibração, preparadas para cada AGV com concentrações que variaram entre 0,2 a 30 mmol/L e utilizando i-6:0 como padrão interno com uma concentração de 5 mmol/L.

3.2.4 Cálculos e análise estatística

As estimativas da extensão da BH do 18:2n-6 e do 18:2n-3 foram calculadas através da diminuição da abundâncias destes AG, em proporção do total de AG C18, entre a dieta e o conteúdo ruminal ou a digesta abomasal, assumindo que não ocorreram perdas de AG C18 nos compartimentos gástricos (Fievez et al., 2007). Os cálculos realizados apresentam-se em seguida exemplificando para a extensão da BH do 18:2n-6 com base nos dados da digesta abomasal:

$$BH_{18:2n-6} = \frac{18:2n-6_{Dieta} - 18:2n-6_{Digesta\ abomasal}}{18:2n-6_{Dieta}} \times 100 \quad (1)$$

Onde,

- $BH_{18:2n-6}$ é a extensão da BH do 18:2n-6, ou seja, é a estimativa do desaparecimento do 18:2n-6 entre a dieta e a digesta abomasal, expressa em g/100 g de 18:2n-6;
- $18:2n-6_{Dieta}$ representa o teor em 18:2n-6 da dieta, expresso em g/100 g do total de AG C18;
- $18:2n-6_{Digesta\ abomasal}$ representa o teor em 18:2n-6 na digesta abomasal, expresso em g/100 g do total de AG C18.

A estimativa da completude do processo de BH ruminal para os C18 presentes na dieta foi obtida relacionando o teor em 18:0 presente no conteúdo ruminal ou na digesta abomasal e o máximo de 18:0 que seria possível encontrar no conteúdo ruminal ou na digesta abomasal se o processo de BH ruminal dos C18 fosse completo, tal como é traduzido pela seguinte equação (Alves et al., 2017) com os dados da digesta abomasal:

$$BH_{completude} = \frac{(18:0_{Digesta\ abomasal})}{(c9-18:1_{Dieta} \times BH_{c9-18:1}) + (c11-18:1_{Dieta} \times BH_{c11-18:1}) + (18:2n-6_{Dieta} \times BH_{18:2n-6}) + (18:3n-3_{Dieta} \times BH_{18:3n-3}) + 18:0_{Dieta}} \times 100 \quad (2)$$

Onde,

- $BH_{completude}$ é a completude da BH ruminal, ou seja, representa a percentagem do total de AG C18 da dieta que é bioidrogenado de forma completa a 18:0, expressa em g/100 g do total de AG C18;
- $18:0_{Digesta\ abomasal}$ representa o teor em 18:0 da digesta abomasal, expresso em g/100 g do total de AG C18;
- $c9-18:1_{Dieta}$, $c11-18:1_{Dieta}$, $18:2n-6_{Dieta}$, $18:3n-3_{Dieta}$ são, respetivamente, os teores em c9-18:1, c11-18:1, 18:2n-6 e 18:3n-3 na dieta, expressos em g/100 g do total de AG C18;
- $BH_{c9-18:1}$, $BH_{c11-18:1}$, $BH_{18:2n-6}$ e $BH_{18:3n-3}$ são, respetivamente, as estimativas da extensão da BH do c9-18:1, c11-18:1, 18:2n-6 e 18:3n-3, calculadas de acordo com

a equação (1);

Os AG de cadeia ramificada (BCFA) são principalmente sintetizados pelas bactérias e têm sido sugeridos como marcados bacterianos (Vlaeminck et al., 2006a, 2004). Baseado no pressuposto de que todos os BCFA presentes no conteúdo ruminal são de origem bacteriana, estimámos a densidade da biomassa bacteriana de acordo com a seguinte fórmula:

$$DBB = BCFA_{\text{rúmen}} \times 100 / BCFA_{\text{BMR}} \quad (3)$$

Onde,

- DBB representa a densidade da biomassa bacteriana, expressa em g/100 g de MS do conteúdo ruminal;
- $BCFA_{\text{rúmen}}$ e $BCFA_{\text{BMR}}$ são, respetivamente, o teor em BCFA no conteúdo ruminal e nas bactérias mistas ruminais, expressos em mg/g de MS.

Como os DMA derivados dos plasmalogéneos não estão presentes nos alimentos utilizados na alimentação dos ruminantes tem sido sugerido que também poderão ser utilizados como ferramentas de diagnóstico do padrão de fermentação ruminal e como marcadores microbianos internos no ecossistema ruminal (Alves et al., 2013). Com base neste pressuposto também utilizamos o teor de DMA para estimar a densidade da biomassa bacteriana no rúmen de acordo com a equação (3).

O procedimento para o isolamento das bactérias mistas ruminais é moroso pelo que apenas se procedeu à caracterização do teor e composição em AG das BMR em apenas 16 borregos (4 de cada dieta). Todas as amostras de BMR foram recolhidas em borregos que estavam alojados em parques diferentes. O teor e composição em AG do conteúdo ruminal e da digesta abomasal foram determinados nos 40 borregos utilizados neste ensaio de alimentação.

Os dados foram analisados de acordo com um desenho experimental completamente casualizado com um arranjo fatorial 2×2 utilizando o procedimento MIXED do programa SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC). O modelo incluiu o nível de amido (S) e a degradabilidade ruminal (D) como efeitos principais, bem como a sua interação (S×D).

Para os dados relativos à digesta abomasal e conteúdo ruminal, o parque foi considerado como efeito aleatório e a covariância das medidas obtidas em borregos alojados no mesmo parque foi considerada no modelo, assumindo uma estrutura de covariâncias com simetria composta. A proposição *group* foi utilizada no modelo de modo a acomodar a heterogeneidade de variância quando observada. Foram determinadas as médias dos quadrados mínimo (LSmeans), com a opção PDIFF, de modo a comparar as dietas. Contudo, como na maioria dos casos o efeito de S×D não foi significativo a interação foi removida do modelo pelo que os resultados apresentados nas tabelas apenas se referem

aos efeitos principais. O nível de significância foi definido como $P < 0,05$ e as tendências para um efeito significativo foram definidas como $0,10 > P > 0,05$.

3.3 Resultados

3.3.1 Parâmetros fermentativos do rúmen, lípidos totais e concentração em ácidos gordos do conteúdo ruminal

Na Tabela 3.2 apresentam-se os parâmetros fermentativos do rúmen. O pH do conteúdo ruminal, medido imediatamente após o abate, e a concentração em AGV não diferiram entre tratamentos ($P > 0,05$), apresentando valores médios de 6,7 e 25,8 mmol/L, respetivamente. Comparativamente às dietas com nível médio de amido, as dietas com nível alto de amido apresentaram proporções molares mais elevadas ($P < 0,05$) de propionato e butirato e proporções molares de acetato e rácios acetato:propionato mais baixos ($P < 0,05$). A degradabilidade ruminal do amido não afetou de forma significativa os parâmetros fermentativos do rúmen.

Tabela 3.2– Parâmetros fermentativos do rúmen de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, médio vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA.

| | S | | D | | SEM | Valor de <i>P</i> | |
|-----------------------|-------|------|-------|------|-------|-------------------|------|
| | médio | alto | média | alta | | S | D |
| pH ruminal | 6,85 | 6,61 | 6,66 | 6,86 | 0,125 | 0,23 | 0,20 |
| Total de AGV (mmol/L) | 23,3 | 28,4 | 27,9 | 23,7 | 3,08 | 0,25 | 0,35 |
| AGV (molar %) | | | | | | | |
| 2:0 | 45,8 | 35,5 | 39,5 | 41,8 | 1,24 | <0,001 | 0,21 |
| 3:0 | 21,5 | 27,2 | 23,8 | 24,9 | 1,42 | 0,014 | 0,57 |
| i-4:0 | 5,39 | 4,95 | 4,99 | 5,35 | 0,427 | 0,47 | 0,56 |
| 4:0 | 16,0 | 21,9 | 20,0 | 17,8 | 1,25 | 0,006 | 0,23 |
| i-5:0 | 5,03 | 3,38 | 4,16 | 4,26 | 0,617 | 0,10 | 0,90 |
| 5:0 | 5,44 | 5,34 | 5,30 | 5,48 | 0,238 | 0,78 | 0,60 |
| 6:0 | 1,10 | 2,04 | 1,83 | 1,31 | 0,343 | 0,079 | 0,33 |
| Rácio 2:0/3:0 | 2,20 | 1,39 | 1,79 | 1,80 | 0,109 | <0,001 | 0,99 |

A concentração total em AG e o perfil em AG do conteúdo ruminal encontra-se na Tabela 3.3 e a composição detalhada em AG C18 encontra-se na Tabela 3.4. O total de AG presente na MS do conteúdo ruminal não foi afetado de modo significativo nem pelo nível de amido ($P > 0,05$) nem pela degradabilidade ruminal do amido ($P > 0,05$), apresentando um valor médio de 75,9 mg/g de MS do conteúdo ruminal (Tabela 3.3). Os tratamentos com nível médio de amido, comparativamente aos tratamentos com nível alto de amido, aumentaram ($P < 0,05$) ou tenderam a aumentar ($P < 0,10$) o total de BCFA, OCFA, OBCFA, SFA (10:0 a 16:0) e VLC-SFA bem como individualmente a maioria dos AG que constituem

esses grupos. A degradabilidade ruminal do amido não apresentou efeitos significativos sobre os AG mencionados anteriormente ($P>0,05$) (Tabela 3.3).

O total de AG C18 diminuiu com as dietas com nível médio de amido comparativamente às com nível alto de amido ($P=0,011$, 83,5 vs. 87,4, respetivamente) e o principal AG presente no conteúdo ruminal foi o 18:0 que se manteve inalterado pelas dietas ($P>0,05$), apresentando um valor médio de 55,7 g/100 g do total de C18 (Tabela 3.4). O total de intermediários da BH apresentou uma média de 38,3 g/100 g do total de C18 ($P>0,05$)

Tabela 3.3– Composição geral em ácidos gordos do conteúdo ruminal de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, médio vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA.

| | S | | D | | SEM | Valor de <i>P</i> | |
|-----------------------------------|-------|------|-------|------|-------|-------------------|------|
| | médio | alto | média | alta | | S | D |
| Total de AG (mg/g MS) | 74,3 | 77,5 | 79,4 | 72,4 | 4,13 | 0,59 | 0,25 |
| Ácidos gordos (mg/g MS) | | | | | | | |
| i-13:0 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,002 | 0,13 | 0,70 |
| i-14:0 | 0,08 | 0,07 | 0,07 | 0,08 | 0,004 | 0,036 | 0,30 |
| i-15:0 | 0,18 | 0,14 | 0,15 | 0,17 | 0,012 | 0,022 | 0,31 |
| i-16:0 | 0,12 | 0,09 | 0,11 | 0,09 | 0,016 | 0,21 | 0,33 |
| i-17:0 | 0,06 | 0,04 | 0,05 | 0,05 | 0,004 | 0,007 | 0,50 |
| i-18:0 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,002 | 0,031 | 0,90 |
| Σ i-BCFA | 0,48 | 0,36 | 0,42 | 0,42 | 0,029 | 0,010 | 0,98 |
| a-15:0 | 0,44 | 0,34 | 0,40 | 0,38 | 0,024 | 0,012 | 0,55 |
| a-17:0 | 0,11 | 0,07 | 0,09 | 0,09 | 0,013 | 0,025 | 0,94 |
| Σ a-BCFA | 0,55 | 0,41 | 0,50 | 0,46 | 0,032 | 0,006 | 0,43 |
| Σ BCFA ¹ | 1,03 | 0,77 | 0,92 | 0,88 | 0,054 | 0,003 | 0,62 |
| 11:0 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,002 | 0,017 | 0,82 |
| 13:0 | 0,04 | 0,05 | 0,05 | 0,04 | 0,006 | 0,35 | 0,16 |
| 15:0 | 0,27 | 0,20 | 0,24 | 0,23 | 0,018 | 0,021 | 0,66 |
| 17:0 | 0,24 | 0,20 | 0,22 | 0,22 | 0,012 | 0,11 | 0,65 |
| Σ OCFA ² | 0,56 | 0,47 | 0,53 | 0,50 | 0,034 | 0,11 | 0,49 |
| Rácio BCFA:OCFA | 1,92 | 1,65 | 1,75 | 1,82 | 0,071 | 0,014 | 0,45 |
| Σ BCFA ³ | 1,59 | 1,25 | 1,46 | 1,38 | 0,085 | 0,011 | 0,56 |
| DMA ⁴ | | | | | | | |
| Σ i-DMA | 0,12 | 0,08 | 0,09 | 0,10 | 0,008 | 0,002 | 0,80 |
| Σ a-DMA | 0,13 | 0,10 | 0,12 | 0,10 | 0,022 | 0,33 | 0,58 |
| Σ OBC-DMA | 0,29 | 0,23 | 0,27 | 0,25 | 0,018 | 0,094 | 0,32 |
| Σ LC-DMA | 0,14 | 0,20 | 0,17 | 0,14 | 0,017 | 0,030 | 0,99 |
| Σ DMA | 0,93 | 0,82 | 0,92 | 0,83 | 0,049 | 0,13 | 0,20 |
| Ácidos gordos (g/100 g AG totais) | | | | | | | |
| 12:0 | 0,63 | 0,18 | 0,39 | 0,41 | 0,031 | <0,001 | 0,13 |
| 14:0 | 1,00 | 0,54 | 0,82 | 0,71 | 0,047 | <0,001 | 0,11 |
| 16:0 | 9,72 | 7,62 | 8,69 | 8,65 | 0,259 | <0,001 | 0,91 |
| Σ SFA (10:0 a 16:0) ⁵ | 11,35 | 8,33 | 9,96 | 9,72 | 0,279 | <0,001 | 0,56 |
| Σ VLC-SFA ⁶ | 1,48 | 1,44 | 1,42 | 1,50 | 0,051 | 0,52 | 0,30 |
| Σ SFA | 58,8 | 59,2 | 60,4 | 57,5 | 3,88 | 0,95 | 0,61 |
| Σ MUFA | 30,9 | 31,9 | 29,9 | 32,9 | 3,28 | 0,84 | 0,52 |
| Σ PUFA | 5,28 | 4,44 | 5,40 | 4,32 | 0,486 | 0,24 | 0,14 |

¹ – BCFA = ácidos gordos de cadeia ramificada = Σ (i-13:0+i-14:0+i-15:0+a-15:0+i-16:0+i-17:0+a-17:0+i-18:0); ² – OCFA = ácidos gordos de cadeia ímpar = Σ (11:0+13:0+15:0+17:0); ³ – OBCFA = ácidos gordos de cadeia ímpar e ramificada = BCFA+OCFA; ⁴ – DMA = dimetilacetais; ⁵ – SFA (10:0 a 16:0) = ácidos gordos saturados = Σ (10:0+12:0+14:0+16:0); ⁶ – VLC-SFA = ácidos gordos saturados de cadeia muito longa = Σ (20:0+22:0+23:0+24:0+26:0+28:0).

Tabela 3.4– Teor (g/100 g do total de AG) e composição (g/100 g do total de C18) em AG C18 do conteúdo ruminal de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA.

| | S | | D | | SEM | Valor de P | |
|--|-------|------|-------|------|-------|------------|-------|
| | Médio | Alto | Média | Alta | | S | D |
| Total de C18 (g/100 g total de AG) | 83,5 | 87,4 | 85,4 | 85,5 | 0,33 | <0,001 | 0,92 |
| Ácidos gordos C18 (g/100 g total de C18) | | | | | | | |
| 18:0 | 55,0 | 56,5 | 57,3 | 54,1 | 4,53 | 0,82 | 0,63 |
| 10-oxo-18:0 | 2,12 | 1,85 | 1,52 | 2,45 | 0,361 | 0,47 | 0,14 |
| c9-18:1 | 2,47 | 1,78 | 2,18 | 2,07 | 0,213 | 0,050 | 0,67 |
| c11-18:1 | 0,68 | 0,62 | 0,69 | 0,61 | 0,067 | 0,55 | 0,41 |
| 18:2n-6 | 2,14 | 2,26 | 2,48 | 1,92 | 0,203 | 0,71 | 0,039 |
| 18:3n3 | 1,00 | 1,07 | 1,15 | 0,92 | 0,109 | 0,71 | 0,10 |
| t2 | 0,15 | 0,08 | 0,11 | 0,11 | 0,010 | 0,003 | 0,22 |
| t4 | 0,10 | 0,09 | 0,09 | 0,10 | 0,011 | <0,001 | 0,76 |
| t5 | 0,08 | 0,09 | 0,09 | 0,08 | 0,008 | 0,20 | 0,64 |
| t6+t7+t8 | 1,63 | 1,08 | 1,22 | 1,49 | 0,192 | 0,059 | 0,33 |
| t9 | 0,66 | 0,33 | 0,47 | 0,53 | 0,064 | 0,002 | 0,50 |
| t10 | 19,2 | 21,3 | 18,1 | 22,4 | 3,54 | 0,68 | 0,41 |
| t11 | 1,67 | 0,85 | 1,04 | 1,49 | 0,156 | 0,003 | 0,054 |
| t12 | 1,06 | 1,25 | 1,12 | 1,19 | 0,050 | 0,033 | 0,27 |
| t13+t14 | 3,90 | 4,70 | 4,61 | 4,00 | 0,321 | 0,097 | 0,20 |
| t15 | 1,99 | 1,70 | 1,95 | 1,73 | 0,097 | 0,053 | 0,12 |
| t16+c14 | 1,18 | 1,26 | 1,23 | 1,21 | 0,102 | 0,60 | 0,91 |
| c12 | 0,27 | 0,23 | 0,28 | 0,22 | 0,030 | 0,32 | 0,14 |
| c13 | 0,10 | 0,16 | 0,13 | 0,12 | 0,010 | 0,003 | 0,61 |
| c15 | 1,42 | 0,59 | 1,09 | 0,91 | 0,122 | 0,001 | 0,25 |
| c16 | 0,25 | 0,27 | 0,27 | 0,25 | 0,010 | 0,39 | 0,046 |
| Σ isómeros t-18:1 | 31,7 | 32,7 | 30,0 | 34,3 | 3,53 | 0,84 | 0,41 |
| Σ isómeros c-18:1 | 3,23 | 2,49 | 3,11 | 2,61 | 0,155 | 0,004 | 0,036 |
| Σ isómeros 18:1 | 33,7 | 33,9 | 31,9 | 35,7 | 3,59 | 0,97 | 0,77 |
| Não conjugados | | | | | | | |
| ciclo-17+t8,c12+c9,t13 | 0,21 | 0,06 | 0,13 | 0,14 | 0,008 | <0,001 | 0,13 |
| t9,c12 | 0,19 | 0,14 | 0,16 | 0,18 | 0,022 | 0,095 | 0,50 |
| c9,c15 | 0,07 | 0,03 | 0,05 | 0,05 | 0,006 | <0,001 | 0,47 |
| t10,c15+t11,c15 | 1,49 | 0,75 | 1,27 | 0,97 | 0,172 | 0,008 | 0,24 |
| c12,c15 | 0,08 | 0,05 | 0,07 | 0,06 | 0,007 | 0,006 | 0,43 |
| Conjugados | | | | | | | |
| c9,t11 | 0,21 | 0,10 | 0,18 | 0,14 | 0,030 | 0,023 | 0,35 |
| t9,t11+t10,t12 | 0,10 | 0,09 | 0,10 | 0,10 | 0,008 | 0,44 | 0,65 |
| t10,c12 | 0,11 | 0,11 | 0,13 | 0,10 | 0,018 | 0,99 | 0,27 |
| t11,t13+t12,t14 | 0,11 | 0,08 | 0,10 | 0,09 | 0,009 | 0,11 | 0,88 |
| t11,c13 | 0,06 | 0,04 | 0,05 | 0,05 | 0,004 | 0,047 | 0,16 |
| Σ t,t-18:2 não identificados | 0,17 | 0,08 | 0,14 | 0,11 | 0,016 | 0,001 | 0,19 |
| Σ isómeros 18:2 | 3,02 | 1,68 | 2,56 | 2,14 | 0,258 | 0,002 | 0,27 |
| c9,t11,c15 | 0,16 | 0,08 | 0,14 | 0,10 | 0,016 | 0,001 | 0,11 |
| Σ IBH ¹ dos C18 | 38,7 | 37,8 | 36,1 | 40,4 | 4,06 | 0,87 | 0,47 |
| Rácio t10/t11 | 16,3 | 29,4 | 22,4 | 23,3 | 5,85 | 0,13 | 0,92 |

¹ – Σ IBH = somatório do total de intermediários da biohidrogenação.

dos quais 88% são formados por isómeros 18:1 ($P>0,05$, em média, 33,8 g/100 g do total de C18) a maioria com uma configuração *trans*. Individualmente alguns isómeros 18:1 diminuíram ou tenderam a diminuir ($P<0,10$, $t_{12-18:1}$, $t_{13}+t_{14-18:1}$ e $c_{13-18:1}$) enquanto outros aumentaram ou tenderam a aumentar ($P<0,10$, $t_{2-18:1}$, $t_{4-18:1}$, $t_6+t_7+t_8-18:1$, $t_9-18:1$, $t_{11-18:1}$, $t_{15-18:1}$ e $c_{15-18:1}$) com os tratamentos com nível médio de amido comparativamente aos com nível alto de amido (Tabela 3.4).

Apenas dois isómeros 18:1 foram influenciados pela degradabilidade ruminal do amido (Tabela 3.4): o $t_{11-18:1}$ tendeu a diminuir enquanto o $c_{16-18:1}$ aumentou com os tratamentos com amido de média degradabilidade. O principal intermediário da BH ruminal foi o $t_{10-18:1}$ que apresentou uma média de 20,2 g/100 g do total de C18 ($P>0,05$) que resultou num rácio $t_{10}/t_{11-18:1}$ médio de 22,9 ($P>0,05$).

O total de isómeros 18:2 intermediários da BH aumentou com os tratamentos com nível médio de amido comparativamente aos com nível alto e foram formados, principalmente por $t_{10}, c_{15}+t_{11}, c_{15-18:2}$. Alguns isómeros 18:2 aumentaram ou tenderam a aumentar ($P<0,10$) com os tratamentos com nível médio de amido (todos os isómeros 18:2 não conjugados, dois isómeros 18:2 conjugados, $c_9, t_{11-18:2}$ e $t_{11}, c_{13-18:2}$, e o somatório de isómeros $t, t-18:2$ não identificados) comparativamente aos com um nível alto de amido sem que tenham sido observados efeitos significativos devido à degradabilidade ruminal do amido (Tabela 3.4). O principal isómero 18:2 conjugado presente no conteúdo ruminal foi o $c_9, t_{11-18:2}$ exceto nas dietas com nível alto de amido. Apenas foi detetado um isómero 18:3 intermediário da BH no conteúdo ruminal e a sua concentração aumentou com os tratamentos com um nível médio de amido comparativamente aos com um nível alto de amido ($P=0,001$, 0,16 vs. 0,08 g/100 g do total de AG C18).

3.3.2 Lípidos totais e concentração em dimetilacetais e ácidos gordos das bactérias mistas ruminais

A concentração total bem como o perfil em dimetilacetais (DMA) e em AG das bactérias mistas ruminais (BMR) encontram-se na Tabela 3.5. Os AG C18 encontram-se detalhados na Tabela 3.6. O total de AG presente nas BMR foi influenciado quer pelo nível ($P=0,002$) quer pelo tipo ($P=0,001$) de amido, tendo-se observado valores mais baixos nos tratamentos com nível médio de amido e com média degradabilidade ruminal, comparativamente às dietas com nível alto de amido e com amido de alta degradabilidade (78,3 e 77,8 vs. 143,2 e 143,7 g/100 g do total de AG, respetivamente).

O total de BCFA, i-BCFA (no total e individualmente o i-14:0, i-15:0 e i-16:0), rácio BCFA:OCFA, DMA (no total e individualmente o DMA-i-14:0, DMA-a-15:0 e DMA-14:0), bem como os SFA (10:0 a 16:0), total e individualmente, diminuíram ($P<0,05$) com as dietas com nível alto de amido. As dietas com alta degradabilidade ruminal diminuíram ($P<0,05$) os

Tabela 3.5– Teor (mg/g de MS) e composição em ácidos gordos de bactérias mistas ruminais de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA.

| | S | | D | | SEM | Valor de P | |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|-------|
| | Médio | Alto | Média | Alta | | S | D |
| Total de AG (mg/g MS) | 78,3 | 143,2 | 77,8 | 143,7 | 11,64 | 0,002 | 0,001 |
| Ácidos gordos (mg/g MS) | | | | | | | |
| i-13:0 | 0,06 | 0,04 | 0,07 | 0,04 | 0,009 | 0,14 | 0,063 |
| i-14:0 | 0,20 | 0,11 | 0,17 | 0,15 | 0,021 | 0,011 | 0,59 |
| i-15:0 | 0,64 | 0,31 | 0,43 | 0,52 | 0,087 | 0,021 | 0,45 |
| i-16:0 | 0,28 | 0,15 | 0,23 | 0,20 | 0,032 | 0,012 | 0,51 |
| i-17:0 | 0,13 | 0,10 | 0,11 | 0,12 | 0,015 | 0,26 | 0,82 |
| i-18:0 | 0,06 | 0,05 | 0,05 | 0,06 | 0,009 | 0,63 | 0,31 |
| i-BCFA | 1,37 | 0,78 | 1,05 | 1,10 | 0,132 | 0,007 | 0,80 |
| a-15:0 | 1,97 | 1,37 | 1,73 | 1,61 | 0,216 | 0,074 | 0,72 |
| a-17:0 | 0,24 | 0,17 | 0,20 | 0,21 | 0,030 | 0,11 | 0,94 |
| a-BCFA | 2,21 | 1,54 | 1,93 | 1,82 | 0,241 | 0,072 | 0,75 |
| BCFA ¹ | 3,58 | 2,32 | 2,98 | 2,92 | 0,315 | 0,014 | 0,89 |
| 11:0 | 0,07 | 0,11 | 0,11 | 0,08 | 0,012 | 0,051 | 0,15 |
| 13:0 | 0,16 | 0,29 | 0,28 | 0,17 | 0,039 | 0,028 | 0,062 |
| 15:0 | 0,89 | 0,84 | 0,88 | 0,86 | 0,111 | 0,77 | 0,89 |
| 17:0 | 0,40 | 0,46 | 0,38 | 0,48 | 0,069 | 0,51 | 0,35 |
| OCFA ² | 1,52 | 1,72 | 1,65 | 1,59 | 0,193 | 0,49 | 0,81 |
| Rácio BCFA:OCFA | 2,43 | 1,42 | 1,83 | 2,03 | 0,169 | 0,001 | 0,41 |
| OBCFA ³ | 5,10 | 4,04 | 4,63 | 4,50 | 0,465 | 0,13 | 0,85 |
| DMA-i-14:0 | 0,14 | 0,05 | 0,07 | 0,12 | 0,021 | 0,006 | 0,16 |
| DMA-i-15:0 | 0,09 | 0,07 | 0,10 | 0,05 | 0,017 | 0,48 | 0,066 |
| i-DMA | 0,23 | 0,11 | 0,17 | 0,17 | 0,028 | 0,013 | 0,98 |
| DMA-a-15:0 | 0,38 | 0,19 | 0,24 | 0,34 | 0,040 | 0,005 | 0,10 |
| a-DMA | 0,38 | 0,19 | 0,24 | 0,34 | 0,040 | 0,005 | 0,10 |
| DMA-15:0 | 0,14 | 0,14 | 0,15 | 0,13 | 0,019 | 0,91 | 0,35 |
| DMA-17:0 | 0,05 | 0,04 | 0,03 | 0,06 | 0,010 | 0,61 | 0,095 |
| OBC-DMA | 0,77 | 0,51 | 0,60 | 0,68 | 0,109 | 0,13 | 0,61 |
| DMA-14:0 | 0,46 | 0,17 | 0,31 | 0,32 | 0,061 | 0,005 | 0,91 |
| DMA-16:0 | 2,47 | 1,99 | 2,60 | 1,85 | 0,159 | 0,055 | 0,005 |
| DMA-18:0 | 0,17 | 0,11 | 0,15 | 0,13 | 0,024 | 0,099 | 0,55 |
| DMA-c9-18:1 | 0,61 | 0,48 | 0,61 | 0,48 | 0,073 | 0,25 | 0,21 |
| DMA-t10-18:1 | 0,18 | 0,18 | 0,20 | 0,16 | 0,052 | 0,95 | 0,62 |
| DMA-t11-18:1 | 0,05 | 0,04 | 0,04 | 0,05 | 0,009 | 0,25 | 0,43 |
| LC-DMA | 1,02 | 0,95 | 1,08 | 0,88 | 0,158 | 0,77 | 0,38 |
| DMA ⁴ | 4,74 | 3,41 | 4,49 | 3,66 | 0,233 | 0,001 | 0,024 |
| Ácidos gordos (g/100 g total AG) | | | | | | | |
| 12:0 | 1,31 | 0,61 | 1,30 | 0,61 | 0,148 | 0,005 | 0,006 |
| 14:0 | 4,12 | 2,15 | 4,28 | 1,99 | 0,578 | 0,031 | 0,015 |
| 16:0 | 16,2 | 10,5 | 14,9 | 11,8 | 1,04 | 0,002 | 0,057 |
| SFA (10:0 a 16:0) ⁵ | 21,6 | 13,2 | 20,4 | 14,4 | 1,66 | 0,003 | 0,023 |
| VLC-SFA ⁶ | 1,05 | 1,02 | 1,03 | 1,05 | 0,048 | 0,66 | 0,74 |
| SFA | 55,2 | 51,2 | 45,9 | 60,4 | 5,73 | 0,63 | 0,096 |
| MUFA | 25,7 | 37,7 | 35,0 | 28,4 | 4,85 | 0,10 | 0,35 |
| PUFA | 4,18 | 3,39 | 5,02 | 2,54 | 0,670 | 0,42 | 0,021 |

¹ – BCFA = ácidos gordos de cadeia ramificada = Σ (i-13:0+i-14:0+i-15:0+a-15:0+i-16:0+i-17:0+a-17:0+i-18:0); ² – OCFA = ácidos gordos de cadeia ímpar = Σ (11:0+13:0+15:0+17:0); ³ – OBCFA = ácidos gordos de cadeia ímpar e ramificada = BCFA+OCFA; ⁴ – DMA = dimetilacetais; ⁵ – SFA (10:0 a 16:0) = ácidos gordos saturados = Σ (10:0+12:0+14:0+16:0); ⁶ – VLC-SFA = ácidos gordos saturados de cadeia muito longa = Σ (20:0+22:0+23:0+24:0+26:0+28:0).

DMA (total e individualmente o DMA-16:0), SFA (10:0 a 16:0) (no total e individualmente o 12:0 e o 14:0) e o total de PUFA (Tabela 3.5).

O total de AG C18 presentes nas BMR foi influenciado quer pelo nível quer pela degradabilidade ruminal do amido ($P<0,05$). O principal AG C18 presente nas BMR foi o 18:0 que tendeu a diminuir com as dietas com média degradabilidade ruminal comparativamente às dietas de alta degradabilidade ruminal ($P=0,058$, 37,0 vs. 58,9 g/100 g do total de C18, respetivamente). O principal intermediário da BH ruminal presente nas BMR foi o $t10-18:1$ que tendeu a apresentar valores mais baixos nas dietas com nível medio de amido comparativamente às dietas com nível alto de amido ($P=0,078$, 13,3 vs. 29,5 g/100 g do total de C18, respetivamente) (Tabela 3.6). O rácio $t10/t11-18:1$ tendeu a ser 3 vezes mais baixo com os tratamentos com nível médio de amido comparativamente aos com nível alto de amido ($P=0,071$, 10,5 vs. 30,4, respetivamente).

O principal isómero 18:2 foi o $t10,c15+t11,c15-18:2$ e a sua concentração apresentou valores mais altos ($P=0,012$, 2,53 vs. 0,76 g/100 g do total de C18, respetivamente) nas dietas com média degradabilidade ruminal comparativamente às dietas com alta degradabilidade ruminal. O $c9,t11-18:2$ foi o mais pequenos dos isómeros 18:2 conjugados presente nas BMR. Apenas foi identificado um isómero 18:3 nas BMR que apresentou valores mais altos nas dietas com média degradabilidade ruminal comparativamente às dietas com alta degradabilidade ruminal ($P=0,030$; 0,12 vs. 0,03 g/100 g do total de AG C18, respetivamente) (Tabela 3.6).

3.3.3 Lípidos totais e concentração em ácidos gordos do conteúdo abomasal

A concentração total em AG e o perfil de AG da digesta abomasal, com detalhe dos AG C18, encontram-se na Tabela 3.7. O total de AG presente na digesta abomasal permaneceu inalterado pelas dietas ($P>0,05$) e apresentou, em média, o valor de 157,4 mg/g de MS da digesta abomasal.

As dietas com nível médio de amido comparativamente às dietas com nível alto de amido aumentaram, no total e individualmente, os SFA (10:0 a 16:0) ($P<0,001$). As dietas com alta degradabilidade ruminal aumentaram o total de i-BCFA e BCFA ($P<0,05$) (Tabela 3.7).

O total de AG C18 diminuiu com os tratamentos com nível médio de amido comparativamente aos com nível alto de amido ($P<0,001$, 86,8 vs. 89,7 g/100 g do total de C18) e o principal AG presente na digesta abomasal foi o 18:0 com um valor médio de 46,5 g/100 g do total de C18, sem diferenças entre dietas ($P>0,05$). O total de isómeros 18:1 permaneceu inalterado pelas dietas ($P>0,05$) embora individualmente alguns isómeros 18:1 tenham aumentado ou tendido a aumentar ($P<0,10$, $t6+t7+t8-18:1$, $t11-18:1$, $c15-18:1$ e $c16-18:1$) enquanto outros diminuíram ($P<0,05$, $t13+t14+c10-18:1$, $c13-18:1$ e $c14-18:1$) com

Tabela 3.6– Teor (g/100 g de AG) e composição em ácidos gordos C18 (g/100 g de AG C18) de bactérias mistas ruminais de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA.

| | S | | D | | SEM | Valor de <i>P</i> | |
|---------------------------------------|-------|------|-------|------|-------|-------------------|-------|
| | Médio | Alto | Médio | Alto | | S | D |
| Total de C18 (g/100 g do total de AG) | 62,7 | 79,1 | 64,9 | 76,8 | 2,44 | <0,001 | 0,004 |
| Ácidos gordos C18 (g/100 g AG C18) | | | | | | | |
| 18:0 | 49,9 | 45,9 | 37,0 | 58,9 | 7,46 | 0,71 | 0,058 |
| 10-oxo-18:0 | 1,34 | 1,93 | 1,72 | 1,54 | 0,324 | 0,22 | 0,70 |
| c9-18:1 | 4,47 | 1,27 | 4,23 | 1,51 | 0,615 | 0,003 | 0,008 |
| c11-18:1 | 7,56 | 1,90 | 7,62 | 1,84 | 2,05 | 0,072 | 0,067 |
| 18:2n-6 | 2,42 | 0,96 | 2,13 | 1,26 | 0,298 | 0,004 | 0,059 |
| 18:3n3 | 0,76 | 0,45 | 0,80 | 0,41 | 0,105 | 0,054 | 0,021 |
| t2 | 0,12 | 0,08 | 0,09 | 0,11 | 0,011 | 0,025 | 0,19 |
| t4 | 0,14 | 0,10 | 0,11 | 0,12 | 0,010 | 0,021 | 0,57 |
| t5 | 0,10 | 0,08 | 0,11 | 0,07 | 0,009 | 0,096 | 0,027 |
| t6+t7+t8 | 1,35 | 1,46 | 1,77 | 1,05 | 0,335 | 0,82 | 0,15 |
| t9 | 0,62 | 0,76 | 0,93 | 0,45 | 0,226 | 0,65 | 0,15 |
| t10 | 13,3 | 29,5 | 22,7 | 20,1 | 5,97 | 0,078 | 0,76 |
| t11 | 1,73 | 1,05 | 1,10 | 1,67 | 0,320 | 0,16 | 0,23 |
| t12 | 1,50 | 1,43 | 1,81 | 1,11 | 0,205 | 0,80 | 0,032 |
| t13+t14 | 5,24 | 5,84 | 7,18 | 3,90 | 1,105 | 0,71 | 0,056 |
| t15 | 1,78 | 1,42 | 1,53 | 1,68 | 0,231 | 0,30 | 0,65 |
| t16+c14 | 1,23 | 1,18 | 1,10 | 1,32 | 0,169 | 0,82 | 0,37 |
| c12 | 0,73 | 0,39 | 0,84 | 0,29 | 0,128 | 0,081 | 0,009 |
| c13 | 0,24 | 0,23 | 0,37 | 0,10 | 0,066 | 0,92 | 0,011 |
| c15 | 1,32 | 0,78 | 1,42 | 0,69 | 0,184 | 0,058 | 0,014 |
| c16 | 0,29 | 0,32 | 0,38 | 0,24 | 0,039 | 0,59 | 0,026 |
| Σ isómeros t-18:1 | 27,0 | 42,7 | 38,3 | 31,4 | 6,12 | 0,093 | 0,44 |
| Σ isómeros c-18:1 | 3,69 | 2,91 | 3,97 | 2,63 | 0,375 | 0,17 | 0,025 |
| Σ isómeros 18:1 | 29,6 | 44,4 | 41,3 | 32,7 | 6,21 | 0,11 | 0,34 |
| Não conjugados | | | | | | | |
| ciclo-17+t8,c12+c9,t13 | 0,89 | 0,14 | 0,68 | 0,35 | 0,262 | 0,062 | 0,39 |
| t9,c12 | 0,27 | 0,19 | 0,30 | 0,16 | 0,060 | 0,38 | 0,11 |
| c9,c15 | 0,16 | 0,06 | 0,16 | 0,07 | 0,042 | 0,13 | 0,15 |
| t10,c15+t11,c15 | 1,62 | 1,67 | 2,53 | 0,76 | 0,431 | 0,93 | 0,012 |
| c12,c15 | 0,11 | 0,05 | 0,12 | 0,04 | 0,020 | 0,066 | 0,012 |
| Conjugados | | | | | | | |
| c9,t11 | 0,07 | 0,02 | 0,06 | 0,02 | 0,021 | 0,15 | 0,22 |
| t9,t11+t10,t12 | 0,11 | 0,07 | 0,13 | 0,06 | 0,020 | 0,13 | 0,030 |
| t10,c12 | 0,08 | 0,03 | 0,07 | 0,04 | 0,014 | 0,029 | 0,15 |
| t11,t13+t12,t14 | 0,19 | 0,24 | 0,33 | 0,10 | 0,060 | 0,54 | 0,016 |
| t11,c13 | 0,09 | 0,04 | 0,09 | 0,05 | 0,016 | 0,042 | 0,17 |
| Σ isómeros t,t-18:2 não identificados | 0,39 | 0,54 | 0,71 | 0,21 | 0,128 | 0,42 | 0,018 |
| Σ isómeros 18:2 | 3,82 | 3,07 | 5,05 | 1,83 | 0,777 | 0,51 | 0,012 |
| c9,t11,c15 | 0,10 | 0,05 | 0,12 | 0,03 | 0,026 | 0,20 | 0,030 |
| Σ IBH ¹ dos C18 | 34,9 | 49,5 | 48,2 | 36,1 | 6,97 | 0,16 | 0,24 |
| Rácio c/t-18:1 | 0,17 | 0,09 | 0,14 | 0,12 | 0,029 | 0,057 | 0,61 |
| Rácio t10/t11 | 10,5 | 30,4 | 25,2 | 15,7 | 7,11 | 0,071 | 0,36 |

¹ – Σ IBH = somatório do total de intermediários da bioidrogenação.

Tabela 3.7– Teor e composição em ácidos gordos da digesta abomasal de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferenciando no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA.

| | | S | | D | | SEM | Valor de P | |
|---|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|-------|
| | | médio | alto | média | alta | | S | D |
| Total de AG (mg/g de MS) | | 162,4 | 152,3 | 189,7 | 125,0 | 34,56 | 0,73 | 0,31 |
| Ácidos gordos (mg/g de MS) | | | | | | | | |
| | i-15:0 | 0,19 | 0,13 | 0,13 | 0,19 | 0,022 | 0,068 | 0,14 |
| | i-16:0 | 0,19 | 0,09 | 0,09 | 0,19 | 0,040 | 0,10 | 0,12 |
| | i-17:0 | 0,04 | 0,09 | 0,04 | 0,09 | 0,029 | 0,29 | 0,32 |
| Σi-BCFA | | 0,36 | 0,27 | 0,21 | 0,42 | 0,051 | 0,26 | 0,014 |
| | a-15:0 | 0,51 | 0,38 | 0,36 | 0,52 | 0,065 | 0,19 | 0,099 |
| | a-17:0 | 0,33 | 0,18 | 0,27 | 0,24 | 0,081 | 0,24 | 0,83 |
| Σa-BCFA | | 0,63 | 0,52 | 0,54 | 0,61 | 0,084 | 0,35 | 0,57 |
| ΣBCFA ¹ | | 0,97 | 0,77 | 0,70 | 1,04 | 0,109 | 0,21 | 0,044 |
| | 15:0 | 0,37 | 0,21 | 0,30 | 0,27 | 0,061 | 0,094 | 0,76 |
| | 17:0 | 0,45 | 0,44 | 0,51 | 0,38 | 0,088 | 0,84 | 0,42 |
| ΣOCFA ² | | 0,90 | 0,50 | 0,78 | 0,61 | 0,158 | 0,098 | 0,44 |
| Rácio BCFA:OCFA | | 1,33 | 1,47 | 1,16 | 1,64 | 0,185 | 0,63 | 0,095 |
| ΣOBCFA ³ | | 1,87 | 1,30 | 1,49 | 1,69 | 0,183 | 0,050 | 0,46 |
| Ácidos gordos (g/100 g do total de AG) | | | | | | | | |
| | 12:0 | 0,74 | 0,16 | 0,46 | 0,44 | 0,037 | <0,001 | 0,53 |
| | 14:0 | 0,81 | 0,34 | 0,63 | 0,53 | 0,044 | <0,001 | 0,14 |
| | 16:0 | 9,17 | 7,52 | 8,39 | 8,30 | 0,204 | <0,001 | 0,75 |
| ΣSFA (12:0 a 16:0) ⁴ | | 10,72 | 8,01 | 9,53 | 9,21 | 0,250 | <0,001 | 0,37 |
| ΣVLC-SFA ⁵ | | 0,98 | 1,03 | 1,02 | 0,99 | 0,044 | 0,42 | 0,65 |
| ΣSFA | | 50,3 | 52,1 | 52,3 | 50,2 | 3,66 | 0,73 | 0,68 |
| ΣMUFA | | 40,9 | 40,4 | 38,9 | 42,4 | 3,49 | 0,92 | 0,48 |
| ΣPUFA | | 7,34 | 6,35 | 7,60 | 6,10 | 0,67 | 0,28 | 0,16 |
| Total de C18 (g/100 g do total de AG) | | 86,8 | 89,7 | 88,1 | 88,3 | 0,31 | <0,001 | 0,61 |
| Ácidos gordos (g/100 g do total de C18) | | | | | | | | |
| | 18:0 | 44,7 | 48,2 | 47,5 | 45,4 | 4,10 | 0,55 | 0,73 |
| | c9-18:1 | 5,67 | 5,48 | 6,02 | 5,13 | 0,340 | 0,70 | 0,083 |
| | c11-18:1 | 0,84 | 0,70 | 0,80 | 0,74 | 0,052 | 0,080 | 0,41 |
| | 18:2n-6 | 3,85 | 3,90 | 4,33 | 3,42 | 0,440 | 0,95 | 0,16 |
| | 18:3n3 | 1,76 | 1,58 | 1,84 | 1,49 | 0,214 | 0,56 | 0,28 |
| | t5 | 0,16 | 0,14 | 0,16 | 0,13 | 0,021 | 0,58 | 0,32 |
| | t6+t7+t8 | 1,88 | 0,78 | 1,22 | 1,45 | 0,249 | 0,006 | 0,53 |
| | t9 | 1,05 | 0,85 | 0,91 | 0,99 | 0,137 | 0,30 | 0,70 |
| | t10 | 25,0 | 25,9 | 22,6 | 28,4 | 4,26 | 0,88 | 0,35 |
| | t11 | 2,04 | 0,90 | 1,46 | 1,48 | 0,206 | 0,006 | 0,92 |
| | t12 | 0,19 | 0,19 | 0,20 | 0,18 | 0,031 | 0,93 | 0,73 |
| | t13+t14+c10 | 3,88 | 4,85 | 4,68 | 4,05 | 0,282 | 0,027 | 0,13 |
| | t15 | 2,14 | 1,88 | 2,17 | 1,84 | 0,140 | 0,20 | 0,11 |
| | t16 | 1,52 | 1,36 | 1,43 | 1,45 | 0,067 | 0,10 | 0,90 |
| | c12 | 0,44 | 0,39 | 0,47 | 0,36 | 0,044 | 0,44 | 0,099 |
| | c13 | 0,14 | 0,19 | 0,19 | 0,14 | 0,012 | 0,030 | 0,006 |
| | c14 | 0,20 | 0,25 | 0,26 | 0,19 | 0,024 | 0,16 | 0,054 |
| | c15 | 1,45 | 0,67 | 1,21 | 0,90 | 0,145 | 0,003 | 0,14 |
| | c16 | 0,34 | 0,28 | 0,33 | 0,28 | 0,018 | 0,018 | 0,060 |
| Σ isómeros 18:1 | | 40,4 | 38,5 | 37,1 | 41,8 | 3,80 | 0,74 | 0,39 |
| | t10,t15 | 0,61 | 0,38 | 0,54 | 0,44 | 0,101 | 0,13 | 0,48 |
| | t11,c15+t10,c15 | 2,35 | 1,20 | 1,97 | 1,59 | 0,314 | 0,019 | 0,40 |
| Σ isómeros 18:2 | | 2,92 | 1,53 | 2,46 | 2,00 | 0,406 | 0,027 | 0,43 |
| Σ IBH ⁷ dos C18 | | 43,3 | 40,1 | 39,5 | 43,8 | 4,11 | 0,58 | 0,47 |
| Rácio t10/t11-18:1 | | 36,1 | 38,3 | 24,8 | 49,6 | 10,24 | 0,86 | 0,14 |

¹ – BCFA = AG de cadeia ramificada = Σ (i-15:0+a-15:0+i-16:0+i-17:0+a-17:0); ² – OCFA = AG de cadeia ímpar = Σ (15:0+17:0); ³ – OBCFA = AG ramificados e de cadeia ímpar= BCFA+OCFA; ⁴ – SFA (12:0 a 16:0) = AG saturados = Σ (12:0 + 14:0 + 16:0); ⁵ – VLC-SFA = AG saturados de cadeia muito longa = Σ (20:0+22:0+24:0); ⁷ – Σ IBH = somatório do total de intermediários da bioidrogenação.

os tratamentos com nível médio de amido comparativamente às dietas com nível alto de amido (Tabela 3.7).

Os intermediários da BH foram constituídos principalmente por isómeros 18:1 de entre os quais o *t*10-18:1 representou a maioria, sendo o principal intermediário da BH e o segundo mais importante AG C18 presente na digesta abomasal sem diferenças entre dietas ($P>0,05$, em média, 25,5 g/100 g do total de C18). O rácio *t*10/*t*11-18:1 também permaneceu inalterado pelas dietas ($P>0,05$), apresentando um valor médio de 37,2.

A degradabilidade ruminal do amido apenas influenciou de forma significativa dois AG C18 IBH ($P<0,05$, *c*13-18:1 e *c*15-18:1) que diminuíram com as dietas com alta degradabilidade ruminal (Tabela 3.7). O total de isómeros 18:2 IBH aumentaram com os tratamentos com um nível médio de amido comparativamente aos com um nível alto de amido principalmente devido ao aumento do *t*10,*c*15+*t*11,*c*15-18:2. Os tratamento com média degradabilidade do amido comparativamente aos com alta degradabilidade do amido aumentaram ou tenderam a aumentar ($P>0,10$) 4 dos 5 isómero *c*-18:1 presentes na digesta abomasal.

3.3.4 Bioidrogenação e estimativas da biomassa bacteriana ruminal

As estimativas da completude e da extensão da BH dos AG C18 bem como as estimativas da biomassa bacteriana ruminal encontram-se na Tabela 3.8. As estimativas da completude da BH ruminal dos AG C18 bem como da extensão da BH do 18:2n-6 e do 18:3n-3nã foram influenciadas de forma significativa pelos tratamentos ($P>0,05$, 59,2, 93,2 e 97,3 g/100 g do total de C18, respetivamente). De igual modo as estimativas obtidas a partir dos dados

Tabela 3.8– Estimativas da densidade biomassa bacteriana ruminal (DBB) e da bioidrogenação ruminal em borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado, diferindo no nível (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta), suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA.

| | S | | D | | SEM | Valor de <i>P</i> | |
|----------------------------------|-------|------|-------|------|------|-------------------|-------|
| | médio | alto | média | alta | | S | D |
| Biomassa bacteriana (g/100 g MS) | | | | | | | |
| Estimativa a partir dos DMA | 20,3 | 22,9 | 19,6 | 23,6 | 1,86 | 0,35 | 0,15 |
| Estimativa a partir dos BCFA | 30,0 | 35,9 | 36,6 | 29,3 | 4,88 | 0,40 | 0,31 |
| Rúmen | | | | | | | |
| c9-18:1 BH | 90,7 | 92,9 | 93,1 | 90,5 | 0,74 | 0,023 | 0,050 |
| 18:2n-6 BH | 92,2 | 93,3 | 92,9 | 92,6 | 0,62 | 0,21 | 0,76 |
| 18:3n-3 BH | 97,0 | 97,2 | 97,2 | 97,0 | 0,28 | 0,58 | 0,55 |
| BH completude | 58,8 | 59,5 | 60,7 | 57,7 | 4,65 | 0,91 | 0,65 |
| Abomaso | | | | | | | |
| c9-18:1 BH | 77,9 | 80,1 | 79,8 | 78,2 | 1,20 | 0,22 | 0,38 |
| 18:2n-6 BH | 88,1 | 87,0 | 87,6 | 87,4 | 1,44 | 0,59 | 0,91 |
| 18:3n-3 BH | 95,8 | 95,1 | 95,8 | 95,1 | 0,64 | 0,49 | 0,47 |
| BH completude | 50,9 | 55,5 | 53,6 | 52,7 | 5,01 | 0,53 | 0,90 |

da digesta abomasal não foram influenciadas pelos tratamentos ($P > 0,05$, 52,6, 86,4 e 95,1 g/100 g do total de AG C18).

As estimativas da densidade da biomassa bacteriana ruminal (Tabela 3.8) calculadas a partir das concentrações em DMA e BCFA não apresentam diferenças significativas devidas aos tratamentos.

3.4 Discussão

3.4.1 Parâmetros fermentativos do rúmen e atividade microbiana

Neste ensaio, o nível mais baixo de amido foi conseguido substituindo parcialmente os cereais por polpa de citrinos desidratada e o nível mais baixo de degradabilidade ruminal foi conseguido substituindo parcialmente o trigo por milho no alimento concentrado. Com estas estratégias nutricionais, procurámos proporcionar um pH ruminal mais estável e próximo da neutralidade com o intuito de favorecer a produção de *t*11-18:1 e melhorar o perfil de AG da carne, uma vez que tem sido sugerido que o pH ruminal constitui um fator crítico na alteração das vias de BH ruminal (Kalscheur et al., 1997; Martin and Jenkins, 2002; Troegeler-Meynadier et al., 2014). Contudo, não observámos qualquer alteração significativa no pH ruminal (Tabela 3.2) entre dietas o que poderá ser explicado pelo momento em que se procedeu à colheita de amostras do conteúdo ruminal (imediatamente após o abate, sendo que a última refeição dos borregos foi administrada na manhã do dia anterior).

As variações nos produtos resultantes da fermentação ruminal é de esperar que reflitam alterações na abundância relativa de microrganismos ruminais específicos (France and Dijkstra, 2005). Em geral, verifica-se que a síntese *de novo* de lípidos bacterianos diminui quando as dietas são suplementadas com quantidades elevadas de lípidos exógenos (Doreau and Ferlay, 1994). O nível de inclusão de óleo foi o mesmo em todas as dietas (Oliveira et al., 2017) e, no entanto, os SFA (12:0 a 16:0) (Tabela 3.3) aumentaram, quer no conteúdo ruminal, quer nas BMR com os tratamentos com um nível médio de amido, refletindo um aumento da síntese *de novo* a partir do acetato e mostrando um efeito menos inibidor dos AG da dieta sobre a atividade microbiana quando a polpa de citrinos desidratada foi incluída nas dietas. Embora os SFA (12:0 a 16:0) tenham sido influenciados pela degradabilidade ruminal do amido, as diferenças encontradas não têm significado estatístico.

A substituição parcial dos cereais por polpa de citrinos desidratada nos tratamentos com um nível médio de amido provavelmente forneceu mais partículas para a BH. Tipicamente, o desenvolvimento de microrganismos fibrolíticos induz níveis elevados de acetato, enquanto o desenvolvimento de microrganismos amilolíticos está associado ao aumento da proporção de propionato (Fievez et al., 2012). Apesar de as concentrações em AGV terem sido baixas,

devido à suplementação lipídica (Jenkins, 1993) e ao momento em que foram recolhidas as amostras, apresentaram como esperado e de acordo com Dijkstra et al. (2012) uma relação negativa com o pH ruminal ($\text{pH} = 7,72 - 0,038 \times \text{AGV}$; $R^2=0,85$; $P<0,001$). Para além disso, os resultados das proporções molares individuais dos AGV (*i.e.*, maior proporção de acetato e menor proporção de propionato com os tratamentos com um nível médio de amido, Tabela 3.2) sugerem que o putativo aumento do número ou atividade das bactérias fibrolíticas foi principalmente induzido pela redução no nível de amido sem qualquer efeito aparente da degradabilidade ruminal do amido.

Embora os resultados de Mohammed et al. (2010) e deLechartier and Peyraud(2011) sugiram um efeito semelhante da degradabilidade ruminal sobre os parâmetros fermentativos do rúmen ao referido na literatura para a proporção de concentrado na dieta (Dijkstra et al., 2012), os nossos resultados não mostram qualquer efeito significativo, sugerindo que não terão ocorrido grandes alterações na microbiota ruminal tal como também foi observado por(Gimeno et al., 2015). As diferenças reais entre tratamentos, no que se refere à degradabilidade ruminal do amido, poderão ter sido mais baixas do que o estimado (283 vs. 337 g/kg de MS, respetivamente para os tratamentos com média e alta degradabilidade ruminal, Tabela 3.1). A moenda e a peletização, durante a produção dos alimentos compostos (Svihus et al., 2005), bem como a mistura de cereais com diferentes padrões fermentativos (Gimeno et al., 2015; Yahaghi et al., 2013) podem ter atenuado as diferenças na degradabilidade ruminal do amido entre tratamentos.

3.4.2 Teor e composição em ácidos gordos e DMA do conteúdo ruminal e das bactérias mistas ruminais

A composição em AG das bactérias ruminais caracteriza-se por uma grande proporção em AG de cadeia ramificada (BCFA) nos lípidos das suas membranas (Kaneda, 1991) que são utilizados para regular a fluidez das membranas em resposta a diferentes estímulos ambientais (Bauchart et al., 1990). Os BCFA são principalmente produzidos pelas bactérias ruminais e têm sido considerados como forma de caracterizar as populações bacterianas presentes no rúmen (Bessa et al., 2009; Dewhurst et al., 2000; Vlaeminck et al., 2006a, 2006c). Também os DMA, derivados dos plasmalogéneos, têm sido propostos como apresentando o mesmo potencial (Alves et al., 2013). As nossas estimativas da densidade da biomassa bacteriana ruminal (Tabela 3.8), utilizando as concentrações em DMA e BCFA como marcadores microbianos internos, não mostram qualquer diferença entre tratamentos. Os valores obtidos a partir dos BCFA parecem sobrestimar a biomassa bacteriana ruminal enquanto os valores obtidos a partir dos DMA parecem ser mais consistentes com resultados anteriores obtidos por outros métodos (Bessa et al., 2009). Contudo, o perfil de OBCFA (French et al., 2012; Vlaeminck et al., 2006a) e de DMA (Minato et al., 1988;

Miyagawa, 1982; Zorec et al., 2011) diferem entre espécies bacterianas pelo que as alterações no perfil de OBCFA e de DMA têm sido relacionadas com alterações na microbiota ruminal. A análise do perfil de AG de estirpes puras de bactérias ruminais mostrou que as principais bactérias fibrolíticas são ricas em i-AG, nomeadamente i-14:0 e i-15:0 (Fievez et al., 2012; Vlaeminck et al., 2006a), enquanto os i-DMA e OBC-DMA aumentaram com dietas à base de forragem comparativamente a dietas à base de alimento concentrado (Alves et al., 2013). Estas observações suportam a nossa anterior sugestão de um aumento das bactérias fibrolíticas devido à redução do nível de amido através da inclusão de polpa de citrinos desidratada.

Tem sido mostrado que microrganismos fibrolíticos especializados como as bactérias *Fibrobacter succinogenes* (Fernando et al., 2010; Tajima et al., 2001), *Ruminococcus flavefaciens* (Tajima et al., 2001), *Ruminococcus albus* (Gudla et al., 2012), *Butyrivibrio fibrisolvens* (Fernando et al., 2010) e *B. proteoclasticus* (Zened et al., 2013a) diminuem com o nível de amido da dieta. Igualmente, o enriquecimento das dietas com AG insaturados afeta de modo negativo a atividade fibrolíticas da microbiota ruminal (Maia et al., 2010, 2007; Yang et al., 2009). Adicionalmente, foi observado que a combinação de amido com a suplementação com lípidos afeta de modo diferente as populações bacterianas comparativamente ao efeito do amido sem suplementação lipídica (Zened et al., 2013a), nomeadamente, resulta na mais baixa abundância relativa de *B. fibrisolvens*. Contudo, a bactéria *B. fibrisolvens* é considerada a espécie bacteriana mais ativa no processo de BH ruminal dos PUFA da dieta (Jenkins, 1993) pelo que a sua baixa abundância justificaria os baixos teores em c9,t11-18:2 e t11-18:1 observados no conteúdo ruminal e nas BMR com todos os tratamentos.

A concentração de propionato no rúmen depende do número e do tipo de bactérias produtoras de propionato presentes, tal como as bactérias *Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*. Estas bactérias são gram-negativas e encontram-se frequentemente em grande abundância do rúmen de animais alimentados com dietas à base de cereais (Khafipour et al., 2009). A bactéria *M. elsdenii* consegue crescer a baixo pH, é resistente aos AG insaturados (Maia et al., 2007) e tem sido sugerida como sendo produtora de t10-AG. A sua presença no rúmen seria consistente com a elevada proporção de t10-18:1 observada em todos os tratamentos (Tabela 3.4). De igual modo, a presença de *S. ruminantium* no rúmen justificaria a grande acumulação de 10-oxo-18:0 (Tabela 3.4) uma vez que esta bactéria tem a capacidade de hidratar o c9-18:1 a 10-OH-18:0 (Hudson et al., 1996a), um precursor do 10-oxo-18:0 (Jenkins et al., 2006). As bactérias amilolíticas normalmente apresentam baixos teores de BCFA, em particular de i-BCFA, pelo que os maiores teores em i-BCFA observados com os tratamentos com nível médio de amido (Tabela 3.5) suportam a nossa sugestão de que aqueles tratamentos terão diminuído a

população amilolíticas. A diminuição da população amilolíticas com a diminuição do nível de amido dos tratamentos não terá sido, no entanto, suficiente para permitir uma maior redução no teor de $t10-18:1$.

Os a-BCFA parecem ser de particular importância para os microrganismos fermentadores de açúcares e pectinas como as bactérias *Prevotella* spp. (Belanche et al., 2012), pelo que a inclusão de polpa de citrinos desidratada pode ter contribuído para o aumento da sua população. De facto, foi mostrado que as bactérias *Prevotella* spp. são bastante abundantes no rúmen mesmo em animais alimentados com dietas à base de cereais suplementadas com óleos (Petri et al., 2012; Zened et al., 2013a).

A BH ruminal dos PUFA da dieta tem sido interpretada como uma resposta ao stress do ecossistema microbiano ruminal ao efeito tóxico do baixo pH ou das elevadas concentrações em PUFA (Bessa et al., 2015; Maia et al., 2007). Em resposta aos estímulos ambientais, algumas bactérias promovem alterações no conteúdo e na composição lipídica das suas membranas como forma de lidar com o stress imposto (Denich et al., 2003). Por exemplo, foi mostrado que diversas populações microbianas são capazes de se adaptar à presença de taninos (Smith et al., 2005) e de óleos essenciais no meio (Patra and Saxena, 2009) alterando a arquitetura das suas membranas. Neste contexto, foi proposto que a acumulação de AG $t-18:1$ e a sua incorporação nas membranas celulares microbianas (Bessa et al., 2000) ou a isomerização $cis \rightarrow trans$ (Keweloh and Heipieper, 1996) dos AG presentes nas membranas pode permitir a adaptação das bactérias ao stress imposto pelos estímulos ambientais. De acordo com exposto, observámos que o rácio $c/t-18:1$ nas BMR (Tabela 3.6) tendeu a apresentar valores mais baixo com os tratamentos com um nível alto de amido. O somatório dos $t-18:1$ presentes nas RMB (Tabela 3.6) tendeu a ser maior com os tratamentos com um nível alto de amido, principalmente devido a um aumento da produção de $t10-18:1$ durante a BH ruminal. Contudo, com os tratamentos com alta degradabilidade ruminal não foi observado qualquer aumento significativo na isomerização $cis \rightarrow trans$ embora se tenha verificado uma redução no total de $c-18:1$ (Tabela 3.6).

O aumento do comprimento da cadeia dos AG e do rácio SFA:UFA (Heipieper et al., 1992) são outras alternativas utilizadas pelas bactérias de modo a lidar com alterações no seu meio ambiente. De facto, o observado aumento no teor em AG das BMR apresentou uma relação significativa com o teor de VLC-SFA (Total de AG das BMR = $47,20 + 25,05 \times \text{VLC-SFA} + 27,37 \times \text{VLC-SFA}^2$; $R^2 = 0,95$) e o rácio $(\text{SFA} + t\text{-MUFA})/(c\text{-MUFA} + \text{PUFA})$ foi significativamente maior com os tratamentos com nível alto de amido e com alta degradabilidade ruminal comparativamente aos tratamentos com um nível médio de amido e com média degradabilidade ruminal (12,2 e 13,9 vs. 7,5 e 5,9, respetivamente). Este tipo de alterações parece permitir que as bactérias possam regular a fluidez das suas membranas

criando uma estrutura mais compacta como mecanismo de defesa em relação aos stress induzido pelos estímulos ambientais (Heipieper et al., 1992; Keweloh and Heipieper, 1996). Também colocámos como hipótese que as fontes de amido rapidamente degradável (trigo) inibiriam a redução do $t10-18:1$ a $18:0$ de forma mais extensa comparativamente a fontes de amido de menor degradabilidade ruminal (milho). Os resultados de trabalhos anteriores (Jurjanz et al., 2004; Lechartier and Peyraud, 2011; Mohammed et al., 2010) suportam a nossa hipótese e sugerem que o efeito da degradabilidade ruminal do amido sobre o padrão de BH ruminal será semelhante ao referido na literatura para o nível de amido na dieta (Zened et al., 2011). Contudo, os nossos resultados não mostram qualquer efeito significativo da degradabilidade ruminal sobre o teor de $t10-18:1$ ou sobre o rácio $t10/t11-18:1$ (Tabela 3.4), o que poderá estar relacionado com a ausência de alterações significativas nos parâmetros fermentativos do rúmen (Tabela 3.2) como anteriormente discutido e com a elevada variabilidade observada no teor de $t10-18:1$. Ainda assim, nas BMR os tratamentos com amido de média degradabilidade resultaram numa tendência para uma redução na formação de $18:0$ ($P=0,058$, 37,0 vs. 58,9) juntamente com um aumento da acumulação de isómeros $18:2$ ($P=0,012$, 5,05 vs. 1,83) (Tabela 3.6). Estes resultados sugerem uma redução na primeira isomerização do processo de BH do $18:2n-6$ e $18:3n-3$, consistente com o teor mais elevado de PUFA observado nas BMR com as dietas com amido de média degradabilidade ruminal. Deste modo, os nossos resultados parecem apontar para uma resposta diferente ao stress imposto sobre as BMR pela degradabilidade ruminal do amido e que contrastam com os referidos nos trabalhos anteriormente citados. Deste modo, os nossos resultados reforçam a ideia de que o efeito da degradabilidade ruminal do amido sobre o padrão de BH ainda não está completamente esclarecido.

De acordo com o anteriormente discutido, se a grande acumulação de AG *trans* produzidos através da via alternativa do $t10-18:1$ é, de facto, uma estratégia de sobrevivência das bactérias ruminais, então mesmo os níveis mais baixos de amido utilizados no presente ensaio foram demasiado altos, embora reflitam os níveis vulgarmente utilizados pela indústria de alimentos compostos em dietas de engorda de borregos (Ferret et al., 2008). Deste modo, é provável que os efeitos do nível de amido tenham suplantado os da degradabilidade ruminal. Um trabalho recente, sugere que um nível de amido na dieta de 25% estará próximo do limite onde o *shifttrans*-10 poderá ser induzido por outras características da dieta (Francisco et al., 2016).

3.4.3 Bioidrogenação e perfil em ácidos gordos C18 da digesta abomasal

Embora se considere que a BH ruminal é principalmente realizada pelas bactérias fibrolíticas e os nossos resultados com os tratamentos com nível médio de amido sugeriram o seu

putativo aumento em número ou em atividade não observámos qualquer efeito significativo ($P>0.05$) sobre as estimativas da completude da BH ou sobre a extensão da BH do 18:2n-6 e 18:3n-3 (Tabela 3.8). O fluxo relativo dos PUFA pelas principais vias de BH (*i.e.*, via do t_{10-} ou do $t_{11-18:1}$), avaliado pelo rácio $t_{10}/t_{11-18:1}$, mostra que todos os tratamentos resultaram num elevado *shiftrans*-10 (Tabela 3.7). A proporção de $t_{10-18:1}$ foi bastante variável, com valores entre 1,6 e 52,8, 2,3 e 54,4 e 2,2 e 63,3 g/100 g do total de C18 presentes no conteúdo ruminal, BMR e digesta abomasal, respetivamente. A BH incompleta dos PUFA da dieta, com grande acumulação de AG C18 intermediários da BH, tem sido interpretada como uma resposta do ecossistema microbiano ruminal ao efeito tóxico do baixo pH ou da concentração elevada em PUFA no rúmen afetando a comunidade bacteriana ruminal especializada na formação de 18:0 (Bessa et al., 2015; Maia et al., 2007). De acordo, os nossos resultados mostram que a variabilidade do teor ruminal de $t_{10-18:1}$ se relacionou de forma significativa com a completude da BH ($t_{10-18:1}_{\text{rúmen}} = 93,14 - 1,76 \times \text{BH}_{\text{completude}} + 0,0008 \times \text{BH}_{\text{completude}}^2$; $R^2=0,94$; $P<0,001$). Relações semelhantes foram também encontradas com os resultados da digesta abomasal (dados não apresentados).

A ocorrência do *shiftrans*-10 tem sido claramente associada ao fornecimento de 18:2n-6 na dieta e não tanto ao de 18:3n-3 (Aldai et al., 2013) uma vez que a via alternativa do *trans*-10 durante a BH do 18:3n-3 não está ainda bem estabelecida (Alves and Bessa, 2014; Bessa et al., 2015). Contudo, no presente trabalho a grande acumulação de alguns AG reconhecidos como intermediários da BH do 18:3n-3 ($t_{10,c15-18:2}$, $t_{13}+t_{14-18:1}$, $t_{15-18:1}$ e $t_{16}+c_{14-18:1}$) no conteúdo ruminal (Tabela 3.4), BMR (Tabela 3.6) e digesta abomasal (Tabela 3.7), bem como nos lípidos da carne (Tabela 4.3 do Capítulo 4 de acordo com Oliveira et al., 2017) sugere o envolvimento do 18:3n-3 no *shiftrans*-10 da BH ruminal. Por análise de regressão, a variação observada no teor de $t_{10-18:1}$ ruminal foi relacionada com a acumulação de dois intermediários da BH ruminal: $t_{10-18:1} = -3,09 + 211,63 \times (t_{9,c12-18:2}) - 10,66 \times (t_{10,c15}+t_{11,c15-18:2})$ ($R^2=0,87$; $P<0,001$).

Em geral, a composição em AG C18 da digesta abomasal refletiu a composição observada no conteúdo ruminal, indicando que a maioria dos AG C18 formados no rúmen foram transferidos para a digesta abomasal. Deste modo, o principal intermediário da BH presente na digesta abomasal foi o $t_{10-18:1}$, resultando num elevado rácio $t_{10}/t_{11-18:1}$ em todos os tratamentos (Tabela 3.7). A elevada variabilidade observada no teor de $t_{10-18:1}$ entre borregos é consistente com o padrão também observado por outros autores (Alves et al., 2017; Oliveira et al., 2016; Rosa et al., 2014). Sabe-se que a BH depende da microbiota ruminal e vários trabalhos têm mostrado uma grande variação entre animais nas comunidades microbianas presentes no rúmen (Weimer, 2015) refletindo provavelmente fatores individuais, como diferentes padrões de mastigação e ruminação, diferenças no comportamento alimentar ou na taxa de passagem da digesta (Saro et al., 2011). O nível de

amido e o tipo de amido presente nas dietas podem influenciar muitos destes parâmetros (Lechartier and Peyraud, 2011).

A proporção de $t11-18:1$ apresentou valores mais altos com os tratamentos com nível médio de amido comparativamente aos com um nível alto de amido ($P=0,003$, 1,67 vs. 0,85 g/100 g do total de C18, respetivamente) (Tabela 3.4), um padrão que também foi observado na digesta abomasal ($P=0,006$, 2,04 vs. 0,90 g/100 g do total de AG C18, respetivamente) (Tabela 3.7). O aumento da disponibilidade de $t11-18:1$ é desejável uma vez que este isómero $t-18:1$ é a principal fonte de ácido ruménico ($c9,t11-18:2$) por via da dessaturação nos tecidos dos ruminantes (Griinari et al., 2000) bem como nos de humanos (Scollan et al., 2006).

3.5 Conclusões

Os resultados dos parâmetros fermentativos do rúmen e do perfil de AG das bactérias mistas ruminais sugerem que a redução do nível de amido por substituição parcial dos cereais por polpa de citrinos desidratada poderá ter aumentado o número ou a atividade das bactérias fibrolíticas em detrimento das amilolíticas.

Os resultados aqui apresentados sugerem que as estratégias para aumentar a disponibilidade de $t11-18:1$ para absorção e mitigar o *shifttrans*-10 durante produção intensiva de borregos com dietas suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA devem ser dirigidas para a redução da ingestão de amido e não tanto para a utilização de fontes de amido de baixa degradabilidade ruminal.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer aos funcionários da Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção Animal e Saúde (UEISPSA-INIAV), em particular à Paula Santos, pela sua colaboração no abate dos animais, bem como pelo trabalho desenvolvido no âmbito da avaliação das características de qualidade das carcaças e da carne, e ao José Batista pela ajuda prestada no âmbito da avaliação bromatológica dos alimentos. Os autores gostariam igualmente de agradecer à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelas bolsas de investigação concedidas a MA Oliveira (SFRH/PROTEC/67566/2010) e SP Alves (SFRH/BPD/76836/2011) e pelos projetos PTDC/CVT/120122/2010 e UID/CVT/00276/2013.

CAPÍTULO 4

Efeito do nível de amido e da sua degradabilidade ruminal sobre a composição em ácidos gordos da carne de borrego

Maria A. Oliveira ^{a,b}, Susana P. Alves ^{a,c}, José Santos-Silva ^{c,d}, Rui J.B. Bessa ^{a,c}

^a Faculdade de Medicina Veterinária, ULisboa, 1300-477 Lisboa, Portugal

^b Escola Superior Agrária de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 3045-601 Coimbra, Portugal

^c CIISA, Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal

^d Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção Animal e Saúde (UEISPSA-INIAV), 2005-048 Vale de Santarém, Portugal

Este capítulo baseou-se nos resultados publicados no seguinte artigo científico:

Oliveira, MA; Alves, SP; Santos-Silva, J; Bessa, RJB. (2017). Effect of dietary starch level and rumen degradability on lamb meat fatty acid composition. Meat Science, 123: 166-172. [dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.001](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.001).

Contribuição de MA Oliveira para este artigo:

MA Oliveira formulou os alimentos compostos utilizados, realizou o ensaio de alimentação e participou no abate dos borregos e na colheita de amostras. Realizou as análises aos alimentos e à carne. Procedeu à extração dos AG da carne e interpretou os respetivos cromatogramas. Realizou a análise estatística dos dados, interpretou e discutiu os resultados e procedeu à escrita do artigo.

Efeito do nível de amido e da sua degradabilidade ruminal sobre a composição em ácidos gordos da carne de borrego

Resumo

Quarenta borregos foram alimentados com uma de 4 dietas, suplementadas com uma mistura de óleo de linhaça e girassol, diferindo no nível de amido (médio, ≈ 35 vs., alto, $\approx 50\%$) e na degradabilidade ruminal do amido (média, ≈ 70 vs., alta, $\approx 80\%$). Os efeitos das dietas no crescimento dos animais, características das carcaças e composição em ácidos gordos (AG) da carne, com ênfase nos intermediários da biohidrogenação ruminal foram avaliados. Os borregos permaneceram em ensaio por 5 semanas antes de serem abatidos. Os tratamentos não influenciaram de forma significativa o desempenho produtivo dos animais nem as características de qualidade das carcaças. As dietas com amido de alta degradabilidade ruminal diminuíram ($P=0,04$) a força de corte da carne comparativamente às dietas com amido de média degradabilidade ruminal. O teor em lípidos da carne não foi influenciado pelas dietas. As dietas com nível médio de amido aumentaram ($P<0,05$) os SFA e os *c*-MUFA, mas diminuíram ($P<0,05$) os *t*-MUFA, em particular o isómero *t*10-18:1, comparativamente às dietas com nível alto de amido. Os níveis de *t*11-18:1 (0,7% do total de AG) e de *c*9,*t*11-18:2 ($<0,3\%$ do total de AG) permaneceram baixos e os de 18:3n-3 permaneceram altos (1,74% do total de AG) e inalterados pelas dietas.

Palavras-chave: carne de borrego; amido; trigo; milho; ácidos gordos; intermediários da biohidrogenação

4.1 Introdução

Os sistemas de produção de carne a partir de animais ruminantes incluem frequentemente um período de acabamento durante o qual os animais são confinados e alimentados com dietas de elevado valor energético produzidas com cereais, sementes de oleaginosas e seus subprodutos e de modo a obter elevadas taxas de crescimento e adequada eficiência alimentar. Para além disso, é de esperar que este período de acabamento melhore as características de qualidade das carcaças (*i.e.* gordura subcutânea e rendimento de carcaça) e da carne (*i.e.* promovendo a deposição de gordura intramuscular e produzindo carne de cor mais clara e brilhante) comparativamente a animais alimentados com forragem (Priolo et al., 2001). Contudo, o perfil de AG da carne de animais ruminantes alimentados com forragens é considerado como sendo de melhor valor nutricional do que o de animais alimentados com dietas à base de alimento concentrado, uma vez que contém maiores proporções de PUFA, em particular n-3 PUFA e de ácido ruménico (c9,t11-18:2) e ácido vacénico (t11-18:1) (Scollan et al., 2006).

O ácido ruménico é o principal isómero conjugado do ácido linoleico (CLA) com poderosos efeitos anti-carcinogénicos bem estabelecidos em modelos animais e em culturas de células (Gebauer et al., 2011). A maioria do c9,t11-18:2 nos tecidos dos ruminantes tem origem na dessaturação endógena do t11-18:1 catalisada pela enzima estearoil-CoA dessaturase (SCD) (Bessa et al., 2015). Os humanos também são capazes de dessaturar de forma eficiente o t11-18:1 a c9,t11-18:2 (Turpeinen et al., 2002). O t11-18:1 pode exercer por si só efeitos benéficos sobre a saúde (Gebauer et al., 2011; Lim et al., 2014). Contudo, para além do t11-18:1, os AG *trans*, no geral, apresentam efeitos prejudiciais para a saúde humana (FAO, 2010). Em particular, o t10-18:1 tem sido associado com alterações nefastas nos lípidos sanguíneos (Bauchart et al., 2007; Roy et al., 2007) e com doença coronária (Hodgson et al., 1996). O t11-18:1 é o principal intermediário das vias de BH dos C18 PUFA no rúmen quando as forragens são o principal componente das dietas dos ruminantes, mas pode ser substituído pelo t10-18:1 quando o teor em amido da dieta é elevado e o de forragem é baixo (Bessa et al., 2005).

Nas dietas de engorda o nível de inclusão de forragem nas dietas é normalmente muito baixo pelo que a carne de ruminantes engordados intensivamente pode apresentar uma acumulação muito pronunciada de t10-18:1 e um baixo teor em t11-18:1 (*i.e.* *shifttrans*-10) (Bravo-Lamas et al., 2016; McKeown et al., 2010b) mesmo sem suplementação com PUFA (Bessa et al., 2005; McKeown et al., 2010a; Rosa et al., 2014). Quando se estabelece o *shift trans*-10 das vias de BH ruminal, qualquer tentativa para aumentar o c9,t11-18:2 e o n-3 PUFA na carne através da suplementação das dietas com lípidos resulta numa acumulação muito expressiva de t10-18:1 sem qualquer aumento relevante de t11-18:1 e c9,t11-18:2

(Bessa et al., 2015). Assim, a acumulação de $t10-18:1$ em detrimento do $t11-18:1$ e $c9,t11-18:2$ diminui claramente o valor nutricional da carne de animais ruminantes pelo que é importante que sejam investigadas formas de o prevenir (Aldai et al., 2013; Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015).

Para além da clara associação do *shiftrans*-10 com dietas ricas em amido e ricas em PUFA, pouco se sabe sobre outros fatores da dieta que estejam na sua origem (Bessa et al., 2015; Mapiye et al., 2015). Formas de mitigar o *shiftrans*-10 em bovinos de carne engordados intensivamente, incorporando antibióticos, substâncias de efeito tampão e Vitamina E nas dietas, foram testadas no Canadá com resultados fracos e inconsistentes (Mapiye et al., 2015). O *shiftrans*-10 em resposta ao aumento do nível de amido em dietas ricas em óleo e com baixo teor em forragem não está estudado em borregos. Para além disso, o tipo de amido, em particular a sua cinética de degradação ruminal (*i.e.*, degradabilidade ruminal), pode ter um importante papel na indução do *shiftrans*-10. Jurjanz et al. (2004) observaram uma elevada concentração em $t10-18:1$ no leite quando vacas leiteiras foram alimentadas com amido de trigo comparativamente a amido de batata e associaram estes resultados com a maior degradabilidade ruminal do amido do trigo comparativamente ao amido da batata.

Colocámos como hipótese que, a redução do nível de amido e da degradabilidade ruminal do amido em dietas de engorda de borregos suplementadas com óleo, reduzirá a acumulação de $t10-18:1$ na carne sem prejuízo do desempenho produtivo dos animais. Assim, foi planeado um ensaio de alimentação de borregos para estudar os efeitos de dois níveis de amido (35 vs. 50% de amido na MS) e de duas fontes de amido com diferentes degradabilidades ruminais (70 vs. 80%) no *shiftrans*-10 avaliado a partir do perfil de AG da carne.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Animais e dietas

Os animais e as dietas utilizados neste ensaio foram anteriormente descritos em detalhe no ponto 3.2.1 – Animais e dietas do capítulo 3 (página 58). Resumidamente, 40 borregos, machos, Merino Branco foram alimentados com uma de 4 dietas à base de alimento concentrado formuladas de acordo com um arranjo fatorial 2×2 , com 2 níveis de amido (35 ou 50% de amido, em % da MS) e 2 fontes de amido com diferentes degradabilidades ruminais (milho ou trigo) (Huntington, 1997). As diferenças no nível de amido foram obtidas por substituição parcial dos cereais por polpa de citrinos desidratada enquanto as diferenças na degradabilidade ruminal do amido foram obtidas por alteração da proporção de milho e

trigo no alimento composto.

Todos os alimentos compostos foram suplementados com uma mistura de óleo de linhaça e de girassol (6% de uma mistura 2:1). Os ingredientes e a composição química dos alimentos compostos e do feno utilizados foram anteriormente apresentados na Tabela 3.1 do capítulo 3 (página 59). Os valores do consumo individual de alimento foram calculados como metade do consumo diário em cada parque.

4.2.2 Colheita de amostras

No final do período de ensaio, os borregos foram transportados para o matadouro experimental do UEISPA-INIAV, no Vale de Santarém, onde foram atordoados e sangrados. O abate dos animais foi realizado em dois dias consecutivos tendo-se procedido de igual modo em ambos os dias. Os animais chegaram 48 horas antes do primeiro dia de abates e foram alojados em 4 parques de acordo com a sua distribuição pelos tratamentos, tendo continuando a ser alimentados com as dietas anteriormente referidas. Após o abate, o fígado de cada animal foi removido e pesado. As carcaças foram pesadas de modo a obter o peso da carcaça quente (PCQ). Posteriormente, foram arrefecidas a 10°C durante 24 horas, tendo sido novamente pesadas de modo a obter o peso da carcaça fria (PCF), após o que foram refrigeradas durante 48 horas a 2°C.

No terceiro dia após o abate, a gordura pélvica e renal (GPR) e os rins foram removidos, pesados e as carcaças cortadas em metades ao longo do seu plano sagital. O lado esquerdo de cada carcaça foi dividido em 8 peças (Santos-Silva et al., 2002b) e os pesos de cada uma registados de modo a determinar a proporção de peças nobres na carcaça (perna + sela + lombo + costeleta). A sela e a pá foram embaladas a vácuo, refrigeradas a 2°C, tendo sido dissecadas em músculo, osso, gordura subcutânea e intermuscular num período máximo de 48 h.

A cor do músculo *longissimus thoracis* esquerdo foi determinada 3 dias depois do abate ao nível da 13ª vertebra torácica, após 1 hora de exposição ao ar de forma a permitir um adequado desenvolvimento da cor, utilizando um cromómetro Minolta CR-300 (Konica Minolta, Portugal) através do sistema L* (luminosidade), a* (vermelho) e b* (amarelo) (Bessa et al., 2008). Amostras do músculo *longissimus thoracis*, foram embaladas a vácuo e congelados a -20°C até à determinação da força de corte da carne. Foram também recolhidas amostras do músculo *longissimus lumborum* que depois de trituradas num processador de alimentos (3 × 5 s), foram embaladas a vácuo, liofilizadas e armazenadas a -80°C até análise do teor e composição em AG.

4.2.3 Métodos analíticos

Para a força de corte da carne, as amostras congeladas do músculo *longissimus thoracis* esquerdo foram descongeladas durante 24h a 2°C e posteriormente cozinhadas num forno elétrico a 280°C até se atingir uma temperatura interna da carne de 65°C. O músculo *longissimus thoracis* foi isolado e as amostras foram cortadas ao longo das fibras musculares em secções de 1×1 cm². A força de corte foi determinada utilizando um dispositivo Warner-Bratzler, instalado num texturómetro (TA-XT2i) (TA-tx2i Texture Analyzer, Stable Micro Systems, Surrey, UK). Os dados recolhidos representam a média de, pelo menos, 6 réplicas da força máxima utilizada para cortar as amostras transversalmente às fibras musculares.

Os esteres metílicos dos AG (FAME) dos lípidos contidos nos alimentos foram preparados num passo único de extração e transesterificação utilizando tolueno, como descrito por Sukhija and Palmquist (1988). Os lípidos totais das amostras liofilizadas de carne foram extraídos utilizando uma solução de diclorometano e metanol (2:1, v/v). Os lípidos totais foram medidos gravimetricamente, em duplicado, pesando o resíduo após evaporação do solvente numa estufa de vácuo a 37°C. Os lípidos extraídos da carne foram convertidos em FAME utilizando uma solução de metóxido de sódio em metanol anidro (0,5 mol/L) e depois uma solução de ácido clorídrico em metanol (1:1, v/v). O ácido nonadecanóico (19:0) foi usado como padrão interno.

Os FAME das amostras de alimentos e de carne foram analisados por cromatografia gasosa de acordo com o descrito anteriormente no ponto 3.2.3 (Métodos analíticos) do capítulo 3 (página 60).

4.2.4 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do programa SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC). O parque foi considerado como unidade experimental e os borregos no parque foram utilizados como unidades de subamostragem. O modelo incluiu a dieta como efeito fixo, tendo o efeito do nível de amido (S) e da degradabilidade ruminal do amido (D) sido testados utilizando contrastes. Quer S quer D modificaram a quantidade de amido degradável nas dietas, mas enquanto a degradabilidade ruminal do amido aumentou, em média, 123 g/kg de MS das dietas de nível médio de amido para as dietas de nível alto de amido, o aumento entre as dietas de média e de alta degradabilidade ruminal do amido foi de apenas 60 g/kg de MS. Assim, será de esperar que o efeito de S seja cerca de 2 vezes maior do que o efeito de D. Para testar esta hipótese, foi utilizado um terceiro contraste (S vs. 2D) de modo a avaliar se a diferença entre dietas de nível alto e médio de amido era

igual ao dobro da diferença entre as dietas de alta e média degradabilidade ruminal do amido. Complementarmente, os dados foram analisados de acordo com um arranjo fatorial 2×2 de modo a verificar a existência de interações entre o nível e o tipo de amido.

O ganho médio diário (GMD) foi determinado para cada borrego por análise de regressão linear. A distribuição aleatória dos borregos pelos parques resultou numa tendência para diferenças no PV inicial entre dietas o que claramente influenciou os resultados do PV de abate. Deste modo, os modelos estatísticos para o PV de abate, GMD e PCQ contêm o PV inicial como covariável, enquanto os das características de qualidade da carcaça incluem o PCQ como covariável. Os modelos utilizados na análise do perfil de AG da carne contêm o teor de gordura intramuscular como covariável.

4.3 Resultados

4.3.1 Desempenho produtivo, características de qualidade da carcaça e da carne

Os resultados da ingestão dos alimentos, desempenho produtivo dos animais e os referentes às características de qualidade da carcaça e da carne encontram-se na Tabela 4.1. Os animais alimentados com dietas com nível alto de amido apresentaram uma mais

Tabela 4.1– Ingestão, desempenho produtivo, características de qualidade das carcaças e da carne de borregos alimentados com dietas diferindo no nível de amido (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta).

| | MS | | HS | | SEM | Contrastes ¹ | | |
|---------------------------------|------|------|------|------|-------|-------------------------|-------|----------|
| | MD | HD | MD | HD | | S | D | S vs. 2D |
| Peso vivo (kg) | | | | | | | | |
| Inicial | 22,0 | 19,1 | 20,8 | 21,8 | 0,89 | - | - | - |
| Abate ² | 32,5 | 31,5 | 32,0 | 31,9 | 0,78 | 0,99 | 0,46 | 0,50 |
| GMD (g/d) ² | 320 | 297 | 307 | 305 | 22,3 | 0,93 | 0,58 | 0,91 |
| Eficiência alimentar | 0,30 | 0,29 | 0,35 | 0,34 | 0,018 | 0,010 | 0,49 | 0,072 |
| Ingestão (kg de MS/d) | | | | | | | | |
| Total | 1,10 | 0,99 | 0,88 | 0,93 | 0,060 | 0,032 | 0,63 | 0,55 |
| Alimento composto | 1,02 | 0,91 | 0,80 | 0,85 | 0,057 | 0,023 | 0,57 | 0,53 |
| PCQ (kg) ² | 15,9 | 15,1 | 15,6 | 15,1 | 0,47 | 0,67 | 0,18 | 0,31 |
| Fígado (g) ³ | 634 | 640 | 680 | 670 | 25,3 | 0,15 | 0,94 | 0,48 |
| GPR (g) ³ | 336 | 354 | 288 | 304 | 34,0 | 0,16 | 0,63 | 0,29 |
| Sela + Pá | | | | | | | | |
| Músculo ³ | 60,1 | 60,4 | 60,8 | 60,2 | 1,14 | 0,83 | 0,92 | 0,85 |
| Gordura dissecável ³ | 19,3 | 21,3 | 19,2 | 18,4 | 1,30 | 0,25 | 0,67 | 0,38 |
| Cor da carne | | | | | | | | |
| L* | 40,4 | 41,1 | 40,5 | 39,3 | 0,71 | 0,25 | 0,72 | 0,83 |
| a* | 14,4 | 14,7 | 14,7 | 15,1 | 0,54 | 0,54 | 0,51 | 0,75 |
| b* | 4,74 | 5,13 | 5,32 | 5,38 | 0,497 | 0,42 | 0,65 | 0,97 |
| FC (N) | 44,8 | 42,2 | 54,2 | 36,2 | 4,70 | 0,73 | 0,043 | 0,12 |

¹ – Contrastes: S = Dietas com nível alto de amido (HS) vs. Dietas com nível médio de amido (MS); D = Dietas com degradabilidade ruminal alta do amido (HD) vs. Dietas com degradabilidade ruminal média do amido (MD); S vs. 2D = (HS-MS) vs. 2×(HD-MD); ² – Ajustado ao PV inicial; ³ – Ajustado ao peso da carcaça quente;

baixa ingestão de alimento composto (0,83 vs. 0,97 kg/d, $P=0,023$) do que os alimentados com dietas de médio teor de amido. Estas diferenças na ingestão, no entanto, não tiveram impacto ($P>0,05$) no GMD (em média, 307 g/d), no PV de abate (em média, 32 kg) ou no PCQ (em média, 15,4 kg). Como resultado, as dietas de alto teor de amido aumentaram ($P=0,021$) a eficiência alimentar em 0,05 pontos comparativamente às dietas de teor médio de amido sendo que este efeito tendeu a ser maior do que o esperado devido às diferenças no nível de amido degradável no rúmen (S vs. 2D, $P=0,072$) (Tabela 4.1).

Os tratamentos não influenciaram as características de qualidade das carcaças e a composição tecidual do conjunto sela + pá (Tabela 4.1). Os parâmetros da cor da carne (Tabela 4.1) não foram afetados pelos tratamentos. Os tratamentos com amido de alta degradabilidade ruminal reduziram a força de corte do *longissimus thoracis* em cerca de 10,3 N ($\approx 1,05$ kg) ($P=0,043$) comparativamente aos tratamentos com amido de média degradabilidade ruminal enquanto o nível de amido não teve qualquer efeito.

4.3.2 Lípidos totais e composição em ácidos gordos da carne

Os lípidos totais, bem como o total de AG, não foram influenciados de modo significativo pelos tratamentos apresentando, em média, valores de 27,5 mg/g de carne fresca e de 79,7 mg/g de MS de carne, respetivamente (Tabela 4.2). Apesar disso, os tratamentos com nível alto de amido tenderam ($P<0,09$) a diminuir quer o teor em lípidos totais quer o teor total de AG da carne comparativamente aos tratamentos com teor médio de amido.

O perfil de AG da carne é apresentado na Tabela 4.2. Tanto o nível de amido como a degradabilidade ruminal do amido induziram alterações no perfil de AG da carne. Os tratamentos com nível alto de amido resultaram em maiores proporções ($P<0,05$) de 15:0, c7-16:1, a-17:0, 17:0, c9-17:1 e c11-20:1 comparativamente aos tratamentos com nível médio de amido, embora apenas para o 15:0 a resposta tenha sido maior do que o dobro da resposta a D ($P=0,041$). Para além disso, os tratamentos com nível alto de amido reduziram ($P<0,05$) o 16:0 e tenderam a reduzir ($P<0,06$) o c9-18:1, resultando numa redução significativa ($P<0,05$) no total de SFA e c-MUFA comparativamente aos tratamentos com nível médio de amido. Os tratamentos com amido de alta degradabilidade ruminal diminuíram ($P<0,05$) o 14:0, o i-15:0, o 16:0 e o c9-16:1 e aumentaram ($P<0,05$) o 18:0 e o 20:4n-6 comparativamente aos tratamentos com média degradabilidade ruminal do amido.

Na Tabela 4.3 apresenta-se em detalhe a composição em intermediários da BH dos C18 presentes na carne. No conjunto, os intermediários da BH correspondem a mais de 10% do total de AG presentes na carne em todos os tratamentos, tendo estes aumentado ($P=0,003$) de 10,8%, nos borregos alimentados com o nível médio de amido, para 13,3%, nos alimentados com o nível alto de amido sem alterações devido à degradabilidade ruminal do

Tabela 4.2– Lípidos totais (mg/g de carne), teor (mg/g de MS) e composição em ácidos gordos (g/100 g de AG totais) da carne de borregos alimentados com dietas diferindo no nível de amido (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta).

| | MS | | HS | | SEM | Contrastes ¹ | | |
|---|------|------|------|-------|-------|-------------------------|-------|----------|
| | MD | HD | MD | HD | | S | D | S vs. 2D |
| Lípidos totais | 31,6 | 27,1 | 25,9 | 25,3 | 2,04 | 0,083 | 0,23 | 0,78 |
| AG totais | 94,9 | 81,8 | 76,1 | 65,9 | 8,56 | 0,060 | 0,19 | 0,79 |
| Composição em AG (g/100 g AG totais) ² | | | | | | | | |
| 12:0 | 0,11 | 0,13 | 0,12 | 0,11 | 0,008 | 0,36 | 0,24 | 0,13 |
| 14:0 | 2,55 | 2,30 | 2,50 | 2,19 | 0,076 | 0,36 | 0,002 | 0,013 |
| 15:0 | 0,29 | 0,28 | 0,38 | 0,35 | 0,023 | 0,006 | 0,45 | 0,041 |
| 16:0 | 22,4 | 21,8 | 21,8 | 20,7 | 0,30 | 0,015 | 0,013 | 0,25 |
| 17:0 | 0,92 | 0,94 | 1,22 | 1,24 | 0,085 | 0,003 | 0,76 | 0,19 |
| 18:0 | 12,0 | 12,9 | 11,1 | 12,4 | 0,40 | 0,14 | 0,016 | 0,006 |
| Σ SFA ³ | 38,3 | 38,4 | 37,1 | 37,0 | 0,46 | 0,022 | 0,97 | 0,26 |
| i-15:0 | 0,05 | 0,05 | 0,10 | 0,036 | 0,009 | 0,06 | 0,13 | 0,006 |
| a-15:0 | 0,09 | 0,09 | 0,10 | 0,08 | 0,008 | 0,85 | 0,61 | 0,69 |
| i-16:0 | 0,11 | 0,11 | 0,10 | 0,10 | 0,009 | 0,21 | 0,93 | 0,52 |
| i-17:0 | 0,19 | 0,20 | 0,15 | 0,21 | 0,023 | 0,60 | 0,17 | 0,15 |
| a-17:0 | 0,31 | 0,34 | 0,38 | 0,35 | 0,018 | 0,046 | 0,92 | 0,42 |
| i-18:0 | 0,11 | 0,11 | 0,12 | 0,14 | 0,015 | 0,38 | 0,55 | 0,84 |
| Σ BCFA ⁴ | 0,83 | 0,88 | 0,81 | 0,91 | 0,054 | 0,93 | 0,16 | 0,21 |
| c9-14:1 | 0,09 | 0,07 | 0,10 | 0,07 | 0,013 | 0,88 | 0,102 | 0,11 |
| t9-16:1 | 0,14 | 0,14 | 0,23 | 0,12 | 0,032 | 0,31 | 0,15 | 0,065 |
| c7-16:1 | 0,17 | 0,23 | 0,25 | 0,23 | 0,016 | 0,038 | 0,18 | 0,82 |
| c9-16:1 | 1,41 | 1,31 | 1,48 | 1,20 | 0,086 | 0,79 | 0,046 | 0,087 |
| c9-17:1 | 0,49 | 0,50 | 0,69 | 0,64 | 0,066 | 0,025 | 0,82 | 0,18 |
| c9-18:1 | 30,8 | 31,7 | 29,9 | 28,3 | 0,99 | 0,057 | 0,68 | 0,51 |
| c11-18:1 | 1,33 | 1,29 | 1,42 | 1,34 | 0,055 | 0,22 | 0,30 | 0,084 |
| c11-20:1 | 0,10 | 0,10 | 0,15 | 0,13 | 0,013 | 0,017 | 0,30 | 0,077 |
| Σ c-MUFA ⁵ | 35,8 | 36,3 | 34,8 | 32,3 | 1,00 | 0,028 | 0,32 | 0,84 |
| 18:2n-6 | 7,31 | 6,91 | 7,17 | 7,81 | 0,273 | 0,21 | 0,66 | 0,69 |
| 18:3n-6 | 0,04 | 0,04 | 0,03 | 0,06 | 0,009 | 0,67 | 0,20 | 0,33 |
| 20:2n-6 | 0,10 | 0,09 | 0,09 | 0,10 | 0,009 | 0,86 | 0,41 | 0,54 |
| 20:3n-6 | 0,15 | 0,17 | 0,18 | 0,19 | 0,013 | 0,13 | 0,17 | 0,70 |
| 20:4n-6 | 1,67 | 2,05 | 1,73 | 2,02 | 0,102 | 0,89 | 0,005 | 0,009 |
| 22:2n-6 | 0,13 | 0,19 | 0,21 | 0,17 | 0,040 | 0,52 | 0,77 | 0,92 |
| 22:4n-6 | 0,15 | 0,17 | 0,13 | 0,13 | 0,015 | 0,088 | 0,66 | 0,28 |
| Σ n-6 PUFA ⁶ | 10,3 | 10,2 | 10,2 | 10,9 | 0,35 | 0,41 | 0,40 | 0,91 |
| 18:3n-3 | 1,84 | 1,72 | 1,65 | 1,74 | 0,079 | 0,31 | 0,88 | 0,76 |
| 20:5n-3 | 0,40 | 0,46 | 0,38 | 0,42 | 0,031 | 0,39 | 0,14 | 0,10 |
| 22:5n-3 | 0,58 | 0,69 | 0,69 | 0,60 | 0,048 | 0,89 | 0,93 | 0,89 |
| 22:6n-3 | 0,22 | 0,23 | 0,19 | 0,25 | 0,024 | 0,86 | 0,17 | 0,21 |
| Σ n-3 PUFA ⁷ | 4,34 | 4,19 | 4,04 | 4,32 | 0,187 | 0,69 | 0,72 | 0,63 |
| Σ PUFA ⁸ | 15,3 | 15,1 | 15,0 | 15,8 | 0,48 | 0,59 | 0,53 | 0,91 |
| Σ DMA ⁹ | 2,44 | 2,51 | 2,77 | 2,86 | 0,155 | 0,054 | 0,61 | 0,97 |
| Rácio n-6:n-3 | 2,35 | 2,42 | 2,55 | 2,55 | 0,067 | 0,040 | 0,59 | 0,46 |

¹ – Contrastes: S = Dietas com nível alto de amido (HS) vs. Dietas com nível médio de amido (MS); D = Dietas com degradabilidade ruminal alta do amido (HD) vs. Dietas com degradabilidade ruminal média do amido (MD); S vs. 2D = (HS-MS) vs. 2×(HD-MD); ² – Ajustados ao total de lípidos; ³ – SFA = Σ (12:0 + 14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0 + 18:0); ⁴ – BCFA = AG de cadeia ramificada = Σ (i-15:0 + a-15:0 + i-16:0 + i-17:0 + a-17:0 + i-18:0); ⁵ – c-MUFA = MUFA com ligações duplas de configuração *cis*; ⁶ – Σ n-6 PUFA = Σ (18:2n-6 + 18:3n-6 + 20:2n-6 + 20:3n-6 + 20:4n-6 + 22:2n-6 + 22:4n-6); ⁷ – Σ n-3 PUFA = Σ (18:3n-3 + 20:5n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3); ⁸ – Σ PUFA = Σ (n-6 PUFA + n-3 PUFA); ⁹ – Σ DMA = dimetilacetais.

Tabela 4.3– Intermediários da bioidrogenação dos C18 (g/100 g AG totais) presentes na carne de borregos alimentados com dietas diferindo no nível de amido (S, médio vs. alto) e na degradabilidade ruminal do amido (D, média vs. alta).

| | | MS | | HS | | SEM | Contrastes ¹ | | |
|----------------------------|----------------|------|------|-------|-------|-------|-------------------------|-------|----------|
| | | MD | HD | MD | HD | | S | D | S vs. 2D |
| Isômeros 18:1 | | | | | | | | | |
| | t5 | 0,06 | 0,07 | 0,08 | 0,08 | 0,013 | 0,47 | 0,57 | 0,86 |
| | t6+t7+t8 | 0,26 | 0,27 | 0,24 | 0,22 | 0,034 | 0,28 | 0,87 | 0,71 |
| | t9 | 0,29 | 0,31 | 0,22 | 0,20 | 0,034 | 0,027 | 0,96 | 0,25 |
| | t10 | 4,91 | 4,14 | 6,85 | 8,44 | 0,552 | <0,001 | 0,48 | 0,077 |
| | t11 | 0,69 | 0,72 | 0,58 | 0,66 | 0,117 | 0,40 | 0,60 | 0,39 |
| | t12 | 0,26 | 0,36 | 0,25 | 0,24 | 0,010 | 0,021 | 0,069 | 0,018 |
| | t15 | 0,28 | 0,29 | 0,25 | 0,20 | 0,037 | 0,15 | 0,62 | 0,80 |
| | t16 | 0,15 | 0,27 | 0,24 | 0,27 | 0,037 | 0,32 | 0,058 | 0,19 |
| | c10 | 0,39 | 0,63 | 0,77 | 0,62 | 0,117 | 0,14 | 0,71 | 0,75 |
| | c12 | 0,57 | 0,48 | 0,45 | 0,26 | 0,072 | 0,054 | 0,081 | 0,50 |
| | c13 | 0,26 | 0,15 | 0,18 | 0,14 | 0,040 | 0,41 | 0,19 | 0,32 |
| | c14 | 0,10 | 0,14 | 0,19 | 0,10 | 0,029 | 0,54 | 0,45 | 0,29 |
| | c15 | 0,75 | 0,61 | 0,42 | 0,29 | 0,088 | 0,003 | 0,15 | 0,78 |
| | c16 | 0,06 | 0,06 | 0,08 | 0,07 | 0,008 | 0,25 | 0,73 | 0,35 |
| Somatório | | 8,55 | 7,72 | 10,21 | 11,35 | 0,681 | 0,002 | 0,83 | 0,13 |
| Isômeros 18:2 | | | | | | | | | |
| | t8,c12 | 0,21 | 0,25 | 0,27 | 0,35 | 0,043 | 0,11 | 0,20 | 0,67 |
| | t9,c11 | 0,06 | 0,05 | 0,09 | 0,09 | 0,010 | 0,004 | 0,72 | 0,047 |
| | t9,t12 | 0,11 | 0,11 | 0,09 | 0,11 | 0,021 | 0,76 | 0,58 | 0,49 |
| | t9,c12 | 0,15 | 0,10 | 0,11 | 0,07 | 0,015 | 0,058 | 0,021 | 0,18 |
| | t9,c13+c9,t12 | 0,23 | 0,23 | 0,27 | 0,19 | 0,014 | 0,91 | 0,007 | 0,009 |
| | c9,t11+t7,c9 | 0,29 | 0,37 | 0,24 | 0,30 | 0,039 | 0,19 | 0,10 | 0,040 |
| | c9,c11/t11,c13 | 0,12 | 0,11 | 0,09 | 0,08 | 0,020 | 0,23 | 0,70 | 0,85 |
| | c9,t13 | 0,33 | 0,35 | 0,60 | 0,50 | 0,048 | <0,001 | 0,41 | 0,011 |
| | t10,c12 | 0,07 | 0,06 | 0,06 | 0,05 | 0,008 | 0,42 | 0,36 | 0,65 |
| | t10,c15 | 0,94 | 0,77 | 0,85 | 0,99 | 0,126 | 0,63 | 0,90 | 0,74 |
| | c12,c15 | 0,11 | 0,07 | 0,08 | 0,05 | 0,019 | 0,28 | 0,12 | 0,47 |
| Somatório | | 2,34 | 2,11 | 2,47 | 2,24 | 0,137 | 0,32 | 0,10 | 0,054 |
| Isômeros 18:3 | | | | | | | | | |
| | c9,t11,c15 | 0,20 | 0,20 | 0,18 | 0,20 | 0,018 | 0,65 | 0,51 | 0,51 |
| | c9,c12,t15 | 0,10 | 0,08 | 0,08 | 0,09 | 0,009 | 0,46 | 0,78 | 0,92 |
| Somatório | | 0,29 | 0,28 | 0,23 | 0,30 | 0,024 | 0,42 | 0,27 | 0,16 |
| Σ IBH dos C18 ² | | 11,2 | 10,1 | 12,9 | 13,9 | 0,76 | 0,003 | 0,96 | 0,10 |
| Rácio t10/t11-18:1 | | 9,64 | 6,97 | 14,20 | 13,40 | 1,668 | 0,006 | 0,31 | 0,025 |
| Σ 18:0+c9-18:1 | | 43,6 | 44,5 | 40,7 | 40,2 | 1,07 | 0,004 | 0,86 | 0,11 |

¹ – Contrastes: S = Dietas com nível alto de amido (HS) vs. Dietas com nível médio de amido (MS); D = Dietas com degradabilidade ruminal alta do amido (HD) vs. Dietas com degradabilidade ruminal média do amido (MD); S vs. 2D = (HS-MS) vs. 2×(HD-MD); ² – Σ IBH = somatório do total de intermediários da bioidrogenação.

amido ($P=0,96$). O nível de degradabilidade ruminal do amido não afetou os principais intermediários da BH embora tenha exceccionalmente afetado alguns intermediários menores da BH ruminal. O principal intermediário da BH foi o t10-18:1 que variou entre 41% (na dieta MSHD) e 60% (na dieta HSHD) do total de intermediários da BH. As dietas com um nível alto de amido aumentaram ($P<0,001$) o t10-18:1 comparativamente às dietas com um nível médio de amido. O aumento do t10-18:1 com o nível de amido (2,54 pontos percentuais) tendeu a ser maior ($P=0,077$) do que o dobro do efeito alcançado pelo aumento da

degradabilidade ruminal do amido ($2 \times 0,17$ pontos percentuais). Para além disso, a análise dos valores de $t_{10-18:1}$ usando o modelo fatorial 2×2 mostrou que os tratamentos com alta degradabilidade do amido tenderam ($P=0,053$) a aumentar o $t_{10-18:1}$ apenas quando conjugados com níveis altos de amido.

O isómero $t_{11-18:1}$ não foi afetado pelos tratamentos e apresentou valores bastante baixos (0,67% do total de AG). O rácio $t_{10}/t_{11-18:1}$ foi bastante alto (acima de 7) em todos os tratamentos, tendo aumentado ($P=0,006$) de 8,3, nos borregos alimentados com dietas com nível médio de amido, para cerca de 13,8, nos borregos alimentados com dietas com nível alto de amido, o que contrasta com a ausência de resposta ao aumento da degradabilidade ruminal do amido (S vs. 2D, $P=0,025$). Os tratamentos com nível médio de amido aumentaram também de forma clara ($P=0,003$) o $c_{15-18:1}$ comparativamente aos tratamentos com nível alto de amido. Os intermediários dienólicos compreenderam 2,3% do total de AG (cerca de 20% do total de intermediários da BH) tendo sido afetados pelos tratamentos apenas o $t_{9,c_{12-18:2}}$, o pico co-eluído contendo os AG $t_{9,c_{13-18:2}}$ + $c_{9,t_{12-18:2}}$, o $c_{9,t_{13-18:2}}$ e o $t_{9,c_{11-18:2}}$. O isómero $t_{10,c_{15-18:2}}$ foi o principal intermediário dienólico, correspondendo a cerca de 40% do total de intermediários dienólicos, não tendo sido afetado pelos tratamentos. O pico co-eluído de $c_{9,t_{11-18:2}}$ foi bastante baixo em todos os tratamentos, com valor médio de 0,30% do total de AG. O isómero $c_{9,t_{11-18:2}}$ correspondeu a cerca de 60 a 80% do pico comum $c_{9,t_{11-18:2}}$, confirmado por análise GC complementar com uma coluna iónica capilar em metade das amostras. Assim, o $c_{9,t_{11-18:2}}$ representou 0,18 a 0,24% do total de AG, tendo sido o principal isómero de CLA presente na carne. Foram detetados dois intermediários da BH trienólicos que permaneceram inalterados pelas dietas.

4.4 Discussão

Em Portugal e em Espanha, os borregos são frequentemente sujeitos a um período de acabamento de algumas semanas até atingirem os 25 a 30 kg de PV. Devido ao curto período de alimentação, as dietas de engorda normalmente contêm 35 a 45% de amido e são frequentemente suplementadas com lípidos de modo a aumentar a densidade energética (Ferret et al., 2008). Este tipo de dietas, contudo, apresenta uma forte predisposição para induzir a ocorrência do *shifttrans*-10 das vias de BH ruminal. De facto, um levantamento recente do perfil de AG do tecido adiposo de borregos no norte de Espanha indica que cerca de 50% das amostras analisadas apresentam um elevado teor de $t_{10-18:1}$ (Bravo-Lamas et al., 2016).

A ocorrência do *shifttrans*-10 durante a engorda de borregos pode ser exacerbada quando

se incluem fontes de PUFA nas dietas quer para aumentar a ingestão de energia quer para melhorar o teor em CLA e em n-3 PUFA da carne. A mistura de óleos utilizada no presente ensaio fornecia ligeiramente mais 18:3n-3 do que 18:2n-6 e tendo sido referenciada como sendo eficaz na indução de aumentos simultâneos de c9,t11-18:2 (1,8% do total de AG) e de n-3 PUFA (4,0% do total de AG) na carne de borregos alimentados com dietas à base de forragem (Jerónimo et al., 2009). Embora os níveis de n-3 PUFA obtidos no presente ensaio (4,2% do total de AG) sejam compatíveis com os referidos por Jerónimo et al. (2009), os de c9,t11-18:2 são extremamente baixos (<0,30% do total de AG). Esta é uma clara demonstração do falhanço das estratégias baseadas na suplementação com PUFA em dietas de engorda de borregos como forma de enriquecer a carne de ruminantes com CLA devido ao estabelecimento de um extenso *shiftrans*-10 das vias de BH ruminal (Bessa et al., 2015). De facto, apesar das diferenças observadas, todas as dietas resultaram em grandes proporções de t10-18:1 nos lípidos da carne associados a níveis muito baixos de t11-18:1 e, consequentemente, em rácios t10/t11-18:1 muito elevados. Foi também por nós observado um perfil de AG semelhante ao aqui apresentado em borregos alimentados com dietas ricas em amido suplementadas com uma mistura de óleos vegetais semelhante (Oliveira et al., 2016).

A ocorrência do *shiftrans*-10 tem sido claramente associada à suplementação das dietas com 18:2n-6 e não tanto com 18:3n-3 (Aldai et al., 2013; Zened et al., 2011). Contudo, tendo em atenção a elevada concentração de t10-18:1 e a concentração modesta de t11-18:1 presente nos lípidos da carne, é plausível que uma parte considerável do t10-18:1 seja resultante da BH ruminal do 18:3n-3. Para além disso, a presença de um pico relativamente grande de t10,c15-18:2 é indicador de que o 18:3n-3 estará a ser biohidrogenado através da via *trans*-10 alternativa (Alves and Bessa, 2014).

No presente ensaio, é claro que o nível de amido foi muito mais importante do que a degradabilidade ruminal do amido na determinação da magnitude da acumulação do t10-18:1 e no rácio t10/t11-18:1. A diferença no teor de amido degradável no rúmen das dietas, obtida multiplicando o teor de amido pela sua degradabilidade, foi de 123 g/kg de MS entre as dietas de teor médio e alto de amido e de apenas 60 g/kg de MS entre as dietas de média e alta degradabilidade ruminal do amido. Deste modo, se o teor de amido degradável no rúmen for o principal promotor do *shiftrans*-10 e a resposta apresentar um padrão linear aditivo, será de esperar uma resposta 2 vezes maior devido ao aumento do nível de amido degradável no rúmen do que devida ao aumento do nível de amido na dieta. Testámos esta hipótese com o contraste S×2D e o resultado parece confirmar que, dentro dos valores em estudo, o nível de amido é mais importante na determinação do rácio t10/t11-18:1 e na acumulação de t10-18:1 do que o aumento do nível de amido degradável no rúmen. Como o

nível de $t11-18:1$ permaneceu baixo e inalterado pelos tratamentos, uma explicação possível para o aumento do $t10-18:1$ é o facto de o aumento do nível de amido ter promovido uma BH ruminal menos completa (*i.e.*, uma menor produção de $18:0$). Parte do $18:0$ produzido no rúmen é convertido a $c9-18:1$ nos tecidos (Bessa et al., 2015), pelo que a redução do somatório $18:0+c9-18:1$ observada quando o nível de amido aumenta pode ser indicativa de uma menor produção de $18:0$ no rúmen.

Os nossos resultados sugerem que as estratégias para mitigar o *shifttrans*-10 durante a engorda de borregos devem ser dirigidas para a redução da ingestão de amido e não tanto para a alteração da proporção das fontes de amido de modo a reduzir a sua degradabilidade ruminal. De facto, a diferença entre a degradabilidade ruminal efetiva estimada para as dietas de média e alta degradabilidade foi de cerca de 10 pontos percentuais e reflete a amplitude da variação frequentemente encontrada nas dietas de acabamento de borregos com ingredientes comumente utilizados. Apesar disso, não conseguimos observar uma resposta clara na acumulação de $t10-18:1$ no músculo que tendeu a aumentar quando a elevada degradabilidade foi conjugada com o nível mais alto de incorporação de amido nas dietas. Pode ser argumentado que as diferenças reais na degradabilidade do amido das dietas possam ter sido mais baixas do que o estimado uma vez que a moenda e a peletização, durante a produção dos alimentos compostos (Svihus et al., 2005) bem como a mistura de cereais com diferentes padrões de fermentação (Yahaghi et al., 2013) podem ter atenuado as diferenças estimadas das degradabilidades ruminais do amido. Contudo, mesmo quando a cevada foi totalmente substituída por milho (com menos 19 pontos percentuais na degradabilidade ruminal do amido) em dietas ricas em amido administradas a vitelos de 5 meses de idade, a concentração de $t10-18:1$ no fluido ruminal não diminuiu (Gimeno et al., 2015). Também a substituição de trigo por milho em dietas com nível médio de amido suplementadas com linhaça extrudida não resultou em qualquer redução no teor de $t10-18:1$ na carne de borregos (Berthelot et al., 2010). Assim, a redução da degradabilidade ruminal do amido através da substituição de fontes de amido em dietas de engorda de ruminantes de modo a mitigar o *shifttrans*-10 pode não ser uma estratégia eficaz.

Por outro lado, os nossos resultados indicam claramente que, em dietas suplementadas com PUFA, o aumento do teor de amido de 35% para 50% amplia a acumulação de $t10-18:1$ na carne. A ingestão de níveis elevados de amido parece ser o principal indutor do *shifttrans*-10 das vias de BH em borregos. De facto, as dietas ricas em amido mesmo quando não suplementadas com uma fonte de PUFA são capazes de induzir o *shifttrans*-10 (Alves et al., 2013; Bas et al., 2007; Daniel et al., 2004; Mele et al., 2014) embora a adição suplementar de PUFA a tais dietas amplifique de forma marcada o *shifttrans*-10 (Bessa et

al., 2015). No presente ensaio, mesmo o nível mais baixo de amido foi suficientemente alto para prevenir um exuberante *shiftrans*-10. A redução do nível de amido da dieta base parece ser a estratégia mais eficaz de modo a prevenir a ocorrência do *shiftrans*-10. O nível máximo de amido na dieta que não favorece a ocorrência do *shiftrans*-10 não é conhecido, sendo de esperar que esteja dependente das interações entre os ingredientes da dieta, em particular da quantidade e do tipo de suplementação lipídica utilizada. Um trabalho recente da nossa equipa sugere que um nível de amido de 25% estará próximo do limite onde o *shiftrans*-10 pode ser facilmente induzido por outros ingredientes da dieta (Francisco et al., 2016).

Como esperado, os borregos apresentaram elevadas taxas de crescimento semelhantes a outros trabalhos realizados com a mesma raças em condições de produção equivalentes (Bessa et al., 2005; Santos-Silva et al., 2002b). O aumento do teor de amido nas dietas dos borregos melhorou o desempenho produtivo, tal como é demonstrado pelo aumento de 0,05 ponto no rácio GMD:IMS. Para além disso, a magnitude do *shiftrans*-10 não se correlacionou com o desempenho produtivo dos animais. De facto, os produtores de borregos em sistema intensivo apenas estarão na disposição de adotar dietas de baixo teor de amido se o seu custo for suficientemente baixo de modo a compensar qualquer perda no desempenho produtivo dos animais ou se os consumidores estiverem dispostos a pagar mais por uma carne com um perfil de AG mais saudável.

Para além dos efeitos do nível de amido sobre os intermediários da BH, as dietas com elevado teor em amido apenas tiveram efeitos menores sobre o perfil de AG da carne, tal como a ligeira diminuição do 16:0 (-0,9 pontos percentuais) e do total de SFA (-1,6 pontos percentuais). O 16:0 é o principal SFA da carne e é considerado hipercolesterolémico (FAO, 2010) pelo que a sua diminuição pode ser considerada um efeito desejável. Contudo, considerando que este decréscimo modesto do 16:0 foi acompanhado por um grande aumento dos AG *trans* (+2,8 pontos percentuais) sem qualquer melhoria adicional no teor de n-3 PUFA, podemos concluir que o aumento do nível de amido da dieta, de 35 para 50%, piorou a qualidade nutricional dos lípidos da carne.

Os parâmetros da cor da carne foram semelhantes a outros obtidos com borregos leves de raças autóctones mas os valores da força de corte da carne foram mais altos do que os referidos noutros trabalhos com borregos Merino Branco, criados em condições semelhantes (Bessa et al., 2005; Santos-Silva et al., 2002b). Para além disso, os valores da força de corte da carne apresentam uma elevada variabilidade individual independentemente dos tratamentos, com valores entre 22,5 e 67,7 N/kg, sugerindo uma elevada variação na perceção de tenrura por parte do consumidor (Sullivan and Calkins, 2011). A colheita de amostras foi realizada no terceiro dia após abate e este curto período

de tempo pode justificar os resultados obtidos.

O aumento do nível de amido degradável no rúmen, atingido por substituição do milho por trigo, induziu uma redução de 20,8% (-10,3N ou -1,05 kg) na força de corte da carne comparativamente ao nível médio de amido. Jeremiah et al. (1998) observaram que os bifes de novilhos alimentados com dietas à base de cevada eram perçecionados pelo painel de provadores como contendo menos tecido conjuntivo do que os bifes dos animais alimentados com dietas à base de milho, sendo que uma maior proporção de bifes dos novilhos alimentados com dietas à base de milho foi classificada como inaceitável em termos de tenrura comparativamente aos bifes dos animais alimentados com dietas à base de cevada. Estes resultados não são fáceis de explicar uma vez que não foram encontradas diferenças nem na taxa de crescimento nem na composição das carcaças e na literatura não encontrámos qualquer informação que permita explicar a relação entre a força de corte da carne e a degradabilidade ruminal do amido das dietas. Contudo, este é um resultado que merece ser confirmado dada a amplitude do efeito observado (+20,8%).

4.5 Conclusões

O enriquecimento da carne de borrego, produzida em sistema intensivo, com AG benéficos para a saúde, suplementando as dietas com PUFA é limitado pelo *shift* das vias de bioidrogenação que contempla o *t*10-18:1 como principal intermediário. Os resultados aqui apresentados sugerem que as estratégias para mitigar o *shifttrans*-10 na produção intensiva de borregos suplementados com óleos vegetais ricos em PUFA deve ser dirigido para a redução da ingestão de amido e não tanto para a utilização de fontes de amido de baixa degradabilidade ruminal.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer aos funcionários da Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção Animal e Saúde (UEISPSA-INIAV), em particular à Paula Santos, pela sua colaboração no abate dos animais, bem como pelo trabalho desenvolvido no âmbito da avaliação das características de qualidade das carcaças e da carne, e ao José Batista pela ajuda prestada no âmbito da avaliação bromatológica dos alimentos. Os autores gostariam igualmente de agradecer à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelas bolsas de investigação concedidas a MA Oliveira (SFRH/PROTEC/67566/2010) e SP Alves (SFRH/BPD/76836/2011) e pelos projetos PTDC/CVT/120122/2010 e UID/CVT/00276/2013.

CAPÍTULO 5

Efeito do uso de argilas como adsorventes de óleos vegetais na composição em ácidos gordos da digesta abomasal e da carne de borrego

Maria A. Oliveira ^{a,b}, Susana P. Alves ^{a,c}, José Santos-Silva ^{c,d}, Rui J.B. Bessa ^{a,c}

^a Faculdade de Medicina Veterinária, ULisboa, 1300-477 Lisboa, Portugal

^b Escola Superior Agrária de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 3045-601 Coimbra, Portugal

^c CIISA, Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal

^d Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção Animal e Saúde (UEISPSA-INIAV), 2005-048 Vale de Santarém, Portugal

Este capítulo baseou-se nos resultados publicados no seguinte artigo científico:

Oliveira, MA; Alves, SP; Santos-Silva, J; Bessa, RJB. (2016). Effects of clays used as oil adsorbents in lamb diets on fatty acid composition of abomasal digesta and meat. *Animal Feed Science and Technology*, 213: 64-73. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.01.006.

Contribuição de M A Oliveira para este artigo:

MA Oliveira formulou os alimentos compostos utilizados, realizou o ensaio de alimentação e participou no abate dos borregos e na colheita de amostras. Realizou as análises aos alimentos e à carne. Procedeu à extração dos AG da carne e do conteúdo abomasal e participou de forma ativa na interpretação dos respetivos cromatogramas. Realizou a análise estatística dos dados, interpretou e discutiu os resultados e procedeu à escrita do artigo.

Efeito do uso de argilas como adsorventes de óleos vegetais na composição em ácidos gordos da digesta abomasal e da carne de borrego

Resumo

Este ensaio foi desenhado para testar a hipótese de que a utilização de argilas como adsorventes de óleos vegetais em dietas para borregos resulta numa proteção parcial dos ácidos gordos polinsaturados relativamente à bioidrogenação ruminal. Adicionalmente, também colocámos como hipótese que da adição de argilas a dietas ricas em alimento concentrado suplementadas com óleos vegetais teria um efeito atenuante sobre o *shifttrans*-10 das vias de BH ruminal. Assim, comparámos os efeitos da utilização de bentonite e/ou vermiculite como adsorvente de óleos vegetais (60 g/kg de uma mistura de óleo de girassol e de linhaça, 1:2 v/v) na composição em AG da digesta abomasal e na carne de borregos. Para tal foram utilizados 40 borregos machos da raça Merino Branco, aleatoriamente distribuídos por 20 parques de chão ripado. As quatro dietas utilizadas resultaram de um desenho experimental completamente casualizado: C(sem argila), B (30 g/kg de bentonite), V (30 g/kg de vermiculite) e BV (15 g/kg de bentonite + 15 g/kg de vermiculite). O parque foi considerado como unidade experimental.

Nenhuma das dietas utilizadas afetou o desempenho produtivo dos animais ou as características de qualidade da carne analisadas ($P>0,05$) embora a dieta BV tenha resultado numa maior proporção de músculo ($P=0,036$) e de peças nobres ($P=0,024$) na carcaça e numa menor proporção de gordura pélvica e renal ($P=0,014$) e de gordura dissecável ($P=0,046$). Não foram observadas diferenças nos parâmetros fermentativos do rúmen e nas contagens de protozoários ciliados ruminais. No que se refere à composição em AG da digesta abomasal as diferenças observadas entre dietas foram reduzidas. A dieta B reduziu ($P<0,05$) o $t_{11-18:1}$ enquanto a dieta BV reduziu ($P<0,05$) o $t_{10-18:1}$ e tendeu a aumentar ($P=0,054$) o $18:0$. O total de intermediários da BH tendeu ($P=0,060$) a diminuir com a dieta BV enquanto a dieta B claramente aumentou ($P<0,001$) o rácio $t_{10-18:1}/t_{11-18:1}$. Não foi observado qualquer efeito significativo na BH do $18:2n-6$ ou do $18:3n-3$. As dietas não tiveram qualquer efeito significativo nos lípidos totais da carne e o perfil de AG da carne foi bastante semelhante entre dietas. De um modo geral, a carne dos animais de todas as dietas apresentou um elevado teor de $t_{10-18:1}$ (≈ 11 g/100g do total de AG) e $t_{10,c15-18:2}$ ($\approx 2,0$ g/100g do total de AG), enquanto os teores de $t_{11-18:1}$ ($\approx 0,9$ g/100g do total de AG) e de $c9,t_{11-18:2}$ ($\approx 0,2$ g/100g do total de AG) foram bastante baixos. Não foi observado qualquer efeito significativo sobre o teor de $18:2n-6$, $18:3n-3$ e de AG de cadeia longa da carne. Os nossos resultados mostram que a bentonite e/ou vermiculite enquanto adsorventes de óleos vegetais em dietas à base de alimento concentrado são ineficientes na proteção dos PUFA em relação à BH ruminal bem como na prevenção do *shifttrans*-10.

Palavras-chave: Carne de borrego, bentonite, vermiculite, *shift trans*-10, bioidrogenação ruminal.

5.1 Introdução

As gorduras edíveis dos ruminantes caracterizam-se por serem ricas em SFA e AG *trans* que têm sido associados com o aumento do risco de doenças cardiovasculares (FAO, 2010), embora individualmente os SFA e AG *trans* possam diferir nos seus efeitos biológicos (Gebauer et al., 2011). Assim, o desenvolvimento de estratégias no sentido de diminuir os SFA nos produtos dos ruminantes constitui um importante objetivo da investigação nesta área. A modificação da composição da gordura dos produtos dos ruminantes através da sua alimentação é possível embora seja limitada de modo marcado pelo facto de o ecossistema ruminal microbiano isomerizar e hidrogenar de forma extensa os PUFA da dieta. Durante o processo de BH ruminal são formados isómeros conjugados de ácido linoleico e octadecenoatos de configuração *trans*. Alguns destes intermediários da BH ruminal, como é o caso do ácido ruménico ($c9,t11-18:2$) e do ácido vacénico ($t11-18:1$), possuem propriedades anti-carcinogénicas demonstradas em vários modelos animais e em culturas de células (Gebauer et al., 2011; Lim et al., 2014).

A forma mais eficiente de aumentar o teor em $c9,t11-18:2$ na carne de ruminantes (o principal isómero conjugado de ácido linoleico) é através da alimentação com dietas à base de forragem suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA (Bessa et al., 2015, 2005). Nestas condições, os PUFA da dieta são extensamente isomerizados e parcialmente hidrogenados, com uma grande acumulação de $t11-18:1$ que, depois de absorvido no intestino delgado, é extensamente convertido em $c9,t11-18:2$ por ação da enzima delta-9 dessaturase (Bessa et al., 2015). Contudo, a produção animal em sistema intensivo utiliza com frequência dietas à base de alimentos concentrados ricos em amido que, levando a modificações das vias de BH ruminal, conduzem a uma acumulação de $t10-18:1$ em vez do $t11-18:1$ (*i.e.* *shiffttrans*-10) (Aldai et al., 2013). Como o isómero $t10-18:1$ não pode ser convertido endogenamente em isómeros conjugados do ácido linoleico, o estabelecimento de um *shiffttrans*-10 resulta numa grande acumulação de $t10-18:1$ e num baixo teor de $c9,t11-18:2$ nos tecidos (Bessa et al., 2015). Para além disso, ao contrário do $t11-18:1$, o isómero $t10-18:1$ é potencialmente prejudicial para a saúde dos consumidores (Aldai et al., 2013; Mapiye et al., 2015). Deste modo, é necessário desenvolver estratégias no sentido de mitigar a produção de $t10-18:1$ em animais alimentados com dietas à base de alimentos concentrados.

A bentonite e a vermiculite são argilas minerais expansíveis do tipo 2:1 pertencentes ao grupo das esmectites (Murray, 2007). As propriedades especiais deste grupo de argilas minerais, tal como a elevada carga iónica, a média a elevada capacidade de troca catiónica e uma elevada área superficial, são responsáveis pela sua elevada capacidade de adsorção e média a elevada capacidade de expansão, tornando-as materiais valiosos com uma vasta

aplicação na indústria e nos sistemas agrícolas. A bentonite tem sido extensamente utilizada com agente aglomerante, de modo a melhorar a qualidade dos alimentos compostos granulados, tendo sido também testada a sua utilização como agente tampão de modo a mitigar a acidose e o síndrome da depressão da gordura do leite (Bringe and Schultz, 1969). A vermiculite tem sido usada como transportador de gorduras, de modo a mitigar o impacto negativo dos suplementos lipídicos na digestão ruminal (Jenkins and Palmquist, 1984; Tamminga et al., 1983).

Mais recentemente, Sinclair et al. (2005) observaram, ao utilizar vermiculite como adsorvente de óleo de linhaça, uma proteção parcial em relação à BH ruminal. Pensa-se que os efeitos das argilas na proteção dos PUFA em relação à BH ruminal possam ser devidos a uma mais lenta libertação dos TAG ou à saponificação dos PUFA com os iões Mg, libertados devido à elevada capacidade de troca iónica. Num trabalho anterior da nossa equipa, testámos o efeito da inclusão de bentonite em dietas para borregos ricos em forragem e suplementadas com óleo vegetal e não detetámos qualquer efeito significativo no perfil de AG da carne para além de uma redução significativa do $t_{10-18:1}$ (Jerónimo et al., 2010b). Nesse trabalho, além de utilizarmos bentonite, todos os ingredientes foram previamente misturados e depois granulados. Assim, no presente trabalho colocámos como hipótese que, de modo a obter um efeito protetor em relação à BH ruminal, seria necessário adsorver previamente o óleo na argila e que a vermiculite difere da bentonite no que se refere ao potencial para proteger o óleo adicionado à dieta em relação à BH ruminal.

Na literatura clássica encontram-se referência de trabalhos que exploraram o efeito da bentonite na redução do síndrome da depressão da gordura do leite induzido pela dieta em vacas leiteiras (Bringe and Schultz, 1969; Rindsig et al., 1969). Atualmente, é consensual que o síndrome da depressão da gordura do leite induzido pela dieta está intimamente relacionado com a ocorrência do *shifttrans*-10 no rúmen (Bauman and Griinari, 2003). Além disso, a nossa equipa observou num trabalho anterior que a bentonite reduz a concentração de $t_{10-18:1}$ na carne de borrego (Jerónimo et al., 2010b), pelo que colocamos como hipótese que a inclusão de argilas em dietas ricas em amido possa mitigar o *shifttrans*-10 que frequentemente ocorre com este tipo de dietas. Deste modo, no presente ensaio comparámos o efeito da utilização de bentonite e/ou vermiculite como adsorventes de óleos vegetais na composição em AG da digesta abomasal e da carne de borregos.

5.2 Material e métodos

5.2.1 Animais e dietas

Este ensaio foi realizado no ovelheiro da Escola Superior Agrária de Coimbra, Portugal. O manejo dos animais durante o ensaio seguiu as recomendações da Diretiva 86/609/EEC relativa aos

cuidados com os animais. Quarenta borregos machos da raça Merino Branco, com um PV médio inicial de $12,2 \pm 1,61$ kg e com uma idade média de $60 \pm 6,2$ d (média \pm DP) foram aleatoriamente distribuídos por 20 parques com chão ripado. Após uma semana de adaptação às condições experimentais, durante a qual os borregos foram desparasitados com Ivomec® (Merial Portuguesa, Portugal), os animais permaneceram em ensaio durante 45 d. Os borregos foram pesados no início do ensaio e depois semanalmente antes da administração de alimento sem jejum. Durante o ensaio, os animais tiveram sempre água limpa e fresca à disposição tendo sido alimentados uma vez por dia (às 09:00 da manhã) com uma dieta que consistia de 9 partes de um alimento composto e 1 parte de palha de trigo. Os quatro alimentos compostos utilizados foram designados como C (controlo, sem argila), B (30 g/kg de bentonite), V (30 g/kg de vermiculite) e BV (15 g/kg de bentonite + 15 g/kg de vermiculite) e foram aleatoriamente distribuídos pelos parques de acordo com um desenho experimental completamente casualizado. Os alimentos compostos foram produzidos por uma empresa de alimentos compostos comerciais; a mistura de óleos (óleo de linhaça e de girassol, 2:1) foi misturada com as argilas e posteriormente adicionada ao alimento composto num misturador vertical antes da peletização (3 mm de diâmetro, peletização a frio sem adição de vapor de água). Os ingredientes e a composição química dos alimentos compostos utilizados neste ensaio encontram-se na Tabela 5.1. A palha de trigo e o alimento composto foram administrados em comedouros separados, tendo sido registadas diariamente as quantidades oferecidas e refugadas. As dietas foram fornecidas *ad libitum* (110% do consumo observado no dia anterior).

5.2.2 Colheita de amostras

Após 45 d de ensaio, os borregos foram transportados para o matadouro experimental do UEISPSA-INIAV, no Vale de Santarém, para serem abatidos. O abate dos animais foi realizado em dois dias consecutivos tendo-se procedido em cada dia ao abate de metade dos borregos de cada tratamento. Os animais chegaram 24 horas antes do primeiro dia de abates e foram alojados em 4 parques de acordo com a sua distribuição pelos tratamentos, continuando a ser alimentados com as dietas anteriores. No dia de abate, os borregos foram pesados, procedendo-se ao abate, sem jejum, por atordoamento e sangramento.

As amostras de conteúdo abomasal recolhidas (≈ 50 mL) foram congeladas, liofilizadas e armazenadas a -20°C até posterior análise. Amostras de fluido ruminal (cerca de 500 mL) foram recolhidas imediatamente após o abate e filtradas através de 4 camadas de gaze. Subamostras de 4 mL foram transferidas para tubos contendo 80 μL de MgCl_2 (solução saturada) para análise de ácidos gordos voláteis (AGV) e imediatamente armazenadas a -20°C . Para a contagem de protozoários ciliados do rúmen, subamostras de 4 mL foram

Tabela 5.1– Ingredientes (g/kg de alimento), composição química (g/kg MS) e composição em ácidos gordos (g/kg MS) dos alimentos compostos e da palha de trigo utilizados no ensaio de alimentação de borregos.

| | Alimentos compostos ¹ | | | | Palha de trigo |
|--|----------------------------------|------|------|------|----------------|
| | C | B | V | BV | |
| Ingredientes(g/kg de alimento) | | | | | |
| Trigo | 400 | 388 | 388 | 388 | - |
| Milho | 52 | 49 | 49 | 49 | - |
| DDGS de milho | 155 | 150 | 150 | 150 | - |
| Farelo de trigo | 35 | 33 | 33 | 33 | - |
| Radículas de malte | 103 | 100 | 100 | 100 | - |
| Bagaço de palmiste | 103 | 100 | 100 | 100 | - |
| Bagaço de soja | 46 | 44 | 44 | 44 | - |
| Outros ² | 46 | 46 | 46 | 46 | - |
| Mistura de óleos vegetais ³ | 60 | 60 | 60 | 60 | - |
| Bentonite ⁴ | 0 | 30 | 0 | 15 | - |
| Vermiculite ⁵ | 0 | 0 | 30 | 15 | - |
| Composição química(g/kg MS) | | | | | |
| Matéria seca (MS) | 854 | 867 | 859 | 855 | 866 |
| Cinza bruta | 54 | 83 | 83 | 83 | 54 |
| Proteína bruta | 151 | 147 | 148 | 147 | 24 |
| NDF | 206 | 203 | 200 | 239 | 802 |
| ADF | 90 | 103 | 102 | 99 | 500 |
| Amido | 353 | 303 | 317 | 321 | 3 |
| Total de ácidos gordos | 68 | 55 | 54 | 58 | 18,2 |
| Ácidos gordos (g/kg MS) | | | | | |
| 14:0 | 0,64 | 0,49 | 0,47 | 0,52 | 0,22 |
| 16:0 | 4,85 | 3,81 | 3,66 | 4,00 | 0,84 |
| 18:0 | 2,18 | 1,73 | 1,67 | 1,82 | 0,22 |
| c9-18:1 | 11,8 | 9,34 | 8,98 | 9,80 | 0,07 |
| c11-18:1 | 0,41 | 0,32 | 0,30 | 0,34 | 0,29 |
| 18:2n-6 | 21,9 | 17,2 | 16,6 | 18,1 | 0,10 |
| 18:3n-3 | 16,2 | 12,9 | 12,4 | 13,6 | 0,08 |

¹–C, sem argila; B, 30 g/kg de bentonite; V, 30 g/kg de vermiculite; BV, 15 g/kg de bentonite + 15 g/kg de vermiculite; ²–Outros – todos os alimentos compostos continham melaço de cana = 20,5 g/kg, carbonato de cálcio = 13,3 g/kg, bicarbonato de sódio = 5,1 g/kg, sal = 4,1 g/kg, minerais e vitaminas = 3,0 g/kg; ³ – Mistura de óleos vegetais=2 partes de óleo de girassol + 4 partes de óleo de linhaça; ⁴ – Bentonite = 582 g/kg SiO₂ + 336 g/kg Al₂O₃ + 47 g/kg Fe₂O₃ + 2 g/kg CaO + 6 g/kg MgO + 1 g/kg Na₂O + 18 g/kg K₂O + 8 g/kg TiO₂ + 1 g/kg P₂O₅; ⁵ – Vermiculite = 423 g/kg SiO₂ + 131 g/kg Al₂O₃ + 96 g/kg Fe₂O₃ + 30 g/kg CaO + 257 g/kg MgO + 35 g/kg K₂O + 20 g/kg TiO₂ + 1 g/kg outros não identificados.

transferidas para tubos contendo 4 mL de formaldeído e armazenadas no escuro a 4°C até à realização do procedimento de contagem.

As carcaças foram pesadas de modo a obter o peso da carcaça quente (PCQ) e depois arrefecidas a 10°C durante 24 horas, novamente pesadas de modo a obter o peso da carcaça fria (PCF), após o que foram refrigeradas durante 48 horas a 2°C.

No terceiro dia após o abate, a gordura pélvica e renal (GPR) e os rins foram removidos, pesados e as carcaças cortadas em metades ao longo do seu plano sagital. O lado esquerdo de cada carcaça foi dividido em 8 peças de acordo com Santos-Silva et al. (2002b), usadas para posterior avaliação das características de qualidade da carcaça e da carne. O peso de cada peça foi registado e utilizado para estimar a proporção de peças

nobres (perna + sela + lombo + costeleta). A sela e a pá foram embaladas a vácuo, refrigeradas a 0°C, tendo sido dissecadas em músculo, osso, gordura subcutânea e intermuscular num período máximo de 48 h. As costeletas das metades esquerdas das carcaças, contendo o músculo *longissimus thoracis*, foram embaladas a vácuo e congeladas a -20°C até à determinação da força de corte da carne. O músculo *longissimus lumborum* foi isolado nas metades esquerdas de cada carcaça e, após remoção do epimísio, foi triturado num processador de alimentos (3×5s), embalado a vácuo, liofilizado e armazenado a -80°C até análise do perfil e composição em AG.

A cor do músculo *longissimus thoracis* esquerdo foi determinada ao nível da 13ª vertebra torácica, após 1 hora de exposição ao ar de forma a permitir um adequado desenvolvimento da cor, utilizando um cromómetro Minolta CR-300 (Konica Minolta, Portugal) através do sistema L* (luminosidade), a* (vermelho) e b* (amarelo). A força de corte da carne foi determinada em amostras do músculo *longissimus thoracis* esquerdo seguindo o procedimento descrito por Bessa et al. (2005) e utilizando um dispositivo Warner-Bratzler, instalado num texturómetro (TA-XT2i) (TA-tx2i Texture Analyzer, Stable Micro Systems, Surrey, UK).

5.2.3 Métodos analíticos

Amostras dos alimentos distribuídos aos animais foram recolhidas semanalmente (± 1 kg), homogeneizadas e uma subamostra (± 1 kg) foi moída (crivo de 1 mm). As amostras de alimento foram analisadas para matéria seca, cinza bruta, proteína bruta, amido, fibra ácido detergente (ADF) e fibra neutro detergente (NDF) de acordo com a metodologia descrita anteriormente no capítulo 3 (ponto 3.2.3 – Métodos analíticos, página 60).

Os FAME dos lípidos dos alimentos foram preparados num passo único de extração e transesterificação utilizando tolueno, como descrito por Sukhija and Palmquist (1988). As amostras da digesta abomasal foram liofilizadas e os FAME preparados através de um procedimento de metilação em dois passos, utilizando metóxido de sódio e HCl metanólico, adaptado de Jenkins (2010). O ácido nonadecanóico (19:0) foi adicionado no início do processo de metilação e utilizado como padrão interno. Os lípidos totais das amostras liofilizadas de carne foram extraídos utilizando uma solução de diclorometano e metanol (2:1, v/v). Os lípidos totais foram medidos gravimetricamente, em duplicado, pesando o resíduo após evaporação do solvente numa estufa de vácuo a 37°C. Os lípidos extraídos da carne foram convertidos em FAME utilizando uma solução de metóxido de sódio em metanol anidro (0,5 mol/L) e depois uma solução de ácido clorídrico em metanol (1:1, v/v). O ácido nonadecanóico (19:0) foi usado como padrão interno. Os FAME das amostras de alimentos, carne e abomaso foram analisados por cromatografia gasosa de acordo com o descrito

anteriormente no ponto 3.2.3 (Métodos analíticos, página 60) do capítulo 3. As amostras filtradas de fluido ruminal (1 mL) utilizadas para análise dos AGV, foram preparadas e analisadas de acordo com o descrito no ponto 3.2.3 (Métodos analíticos, página 60) do capítulo 3.

Os protozoários ciliados do rúmen foram contados utilizando um microscópio ótico e uma câmara de contagem de Neubauer melhorada após adição de 100 µL de uma solução corante de verde brilhante às amostras preservadas de fluido ruminal e repouso de 1 hora. Procedeu-se ao registo do número de *Entodiniomorphida* e *Holotricha* presentes nas amostras.

5.2.4 Cálculos e análise estatística

As estimativas da extensão da BH do 18:2n-6 e do 18:2n-3 foram obtidas de acordo com a equação (1) como descrito anteriormente no ponto 3.2.4 do capítulo 3 (página 62).

Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do programa SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC). O parque foi considerado como unidade experimental e os borregos utilizados como unidades de amostragem com uma estrutura de covariâncias com simetria composta. A dieta foi considerada como efeito fixo. As médias dos quadrados mínimos foram estimadas e quando detetado um efeito significativo da dieta ($P < 0,05$), as diferenças entre médias foram determinadas utilizando o PDIFF ajustado pela opção Tukey. As contagens de protozoários ciliados ruminais foram analisadas usando um modelo semelhante com o procedimento GLIMMIX do programa SAS 9.4 software (SAS Institute Inc., Cary, NC) utilizando a distribuição binomial negativa e a função log link.

5.3 Resultados

5.3.1 Ingestão de alimento, desempenho produtivo, características de qualidade da carcaça e da carne

Os resultados da ingestão de alimentos e do desempenho produtivo dos animais bem como os dados relativos às características de qualidade da carcaça e da carne analisados encontram-se presentes na Tabela 5.2. Os borregos alimentados com a dieta controlo tenderam ($P = 0,10$) a ingerir uma menor quantidade de alimento compostos comparativamente às dietas com argilas. Isto resultou numa ligeira, mas significativa redução ($P < 0,05$) da ingestão de NDF com a dieta C comparativamente à dieta BV. O alimento composto controlo continha mais AG do que os alimentos compostos com argilas embora não tenha sido observada qualquer diferença na ingestão de AG entre dietas.

Não foram observadas diferenças ($P > 0,10$) entre dietas no que se refere ao ganho médio diário (252 g/d), índice de conversão (2,9 kg de MS ingerida /kg de ganho de peso vivo), PV

Tabela 5.2– Ingestão de alimento, produtividade animal, características de qualidade da carcaça e da carne de borregos alimentados com a dieta controlo (C, sem argila adicionada) ou com dietas contendo bentonite (B), vermiculite (V) ou ambas as argilas (BV) como adsorventes de óleos vegetais.

| | Tratamentos | | | | SEM | valor de <i>P</i> |
|---|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------|-------------------|
| | C | B | V | BV | | |
| Ingestão de MS (g/d) | | | | | | |
| Alimento composto | 589 | 696 | 682 | 663 | 30,3 | 0,10 |
| Palha de trigo | 65 | 61 | 58 | 65 | 3,8 | 0,49 |
| Total | 655 | 757 | 740 | 728 | 31,5 | 0,15 |
| Ingestão de nutrientes (g/d) | | | | | | |
| Proteína bruta | 90 | 104 | 103 | 99 | 4,5 | 0,16 |
| NDF | 173 ^b | 188 ^{ab} | 181 ^{ab} | 212 ^a | 7,8 | 0,016 |
| ADF | 86 | 101 | 98 | 97 | 3,9 | 0,07 |
| Ácidos gordos | 48 | 41 | 40 | 43 | 2,1 | 0,44 |
| Amido | 208 | 207 | 214 | 212 | 9,6 | 0,95 |
| Desempenho produtivo | | | | | | |
| PV de abate (kg) | 22,4 | 23,5 | 23,9 | 23,0 | 0,88 | 0,66 |
| GMD (g/d) | 234 | 265 | 265 | 244 | 13,3 | 0,27 |
| Índice de conversão ¹ | 2,8 | 2,9 | 2,8 | 3,0 | 0,08 | 0,43 |
| Características de qualidade da carcaça | | | | | | |
| Peso da carcaça quente (kg) | 10,3 | 11,0 | 11,3 | 10,9 | 0,51 | 0,58 |
| Rendimento de carcaça ² | 0,46 | 0,47 | 0,47 | 0,47 | 0,009 | 0,70 |
| Peças nobres ³ | 57,4 ^b | 57,0 ^b | 58,0 ^{ab} | 58,8 ^a | 0,42 | 0,036 |
| GPR ⁴ | 4,4 ^a | 4,4 ^a | 3,7 ^{ab} | 3,4 ^b | 0,22 | 0,014 |
| Sela+Pá ⁵ | | | | | | |
| Músculo | 57,7 ^b | 57,7 ^b | 58,5 ^{ab} | 60,8 ^a | 0,77 | 0,036 |
| Osso | 21,5 | 22,5 | 22,7 | 22,2 | 0,57 | 0,56 |
| Gordura intermuscular | 10,4 | 9,8 | 9,1 | 8,9 | 0,55 | 0,23 |
| Gordura subcutânea | 10,4 | 9,9 | 9,8 | 8,1 | 0,76 | 0,19 |
| Gordura dissecável total ⁶ | 20,8 ^a | 19,8 ^{ab} | 18,9 ^{ab} | 17,0 ^b | 0,88 | 0,046 |
| Características de qualidade da carne | | | | | | |
| Força de corte (kg/cm ²) | 7,0 | 7,1 | 6,6 | 6,8 | 0,38 | 0,74 |
| Cor da carne | | | | | | |
| L* | 41,1 | 42,9 | 43,6 | 42,0 | 0,85 | 0,21 |
| a* | 14,4 | 12,9 | 14,1 | 13,3 | 0,45 | 0,11 |
| b* | 4,3 | 3,7 | 5,1 | 4,6 | 0,47 | 0,29 |

¹–kg de MS ingerida/kg de GMD; ²– Rendimento de carcaça = PCQ/PV de abate; ³–Peças nobres em g/100 g do PCF; ⁴–GPR = Gordura pélvica e renal, em g/100g do PCF; ⁵– Dados da dissecação expressos em g/100g do peso da sela+pá e ajustados ao PCQ; ⁶– Gordura dissecável = Gordura Intermuscular +gordura subcutânea.

de abate (23,2 kg) ou peso da carcaça quente (10,9 kg). De forma oposta, os tratamentos influenciaram as características de qualidade da carcaça (Tabela 5.2) com um aumento significativo ($P<0,05$) das peças nobres nos borregos alimentados com a dieta BV comparativamente à dieta B, principalmente devido a uma tendência para uma maior proporção costeleta (dados não apresentados). Os borregos alimentados com a dieta BV apresentaram também uma maior ($P<0,05$) proporção de músculo na sela + pá do que os borregos alimentados com a dieta C. A distribuição da gordura na carcaça também foi afetada pelas dietas, apresentando os borregos alimentados com a dieta BV uma menor ($P<0,05$) proporção de GPR do que os animais alimentados com as dietas C e B, e uma menor ($P<0,05$) proporção de gordura dissecável comparativamente à dieta C. As dietas B e

V resultaram em valores intermédios entre os das dietas controlo e BV no que se refere às proporções de músculo e de gordura dissecável. Não foram observadas diferenças entre tratamentos no que se refere à força de corte e aos parâmetros da cor da carne avaliados no músculo *longissimus*.

5.3.2 Fermentação ruminal e contagem de protozoários

A concentração em AGV foi, em média, de $20,9 \pm 2,80$ mmol/L e não diferiu entre tratamentos. As proporções molares dos principais AGV (mol/100 mol) também não diferiram entre tratamentos, apresentando valores de médios de $41,3 \pm 0,97$, $30,6 \pm 1,36$, $5,8 \pm 0,40$, $14,2 \pm 0,87$, $3,2 \pm 0,26$ e $5,0 \pm 0,33$, para o ácido acético, propiónico, i-butírico, butírico, i-valérico e valérico, respetivamente. As contagens de protozoários ciliados ruminais também não diferiram entre tratamentos, tendo sido observadas contagens médias por mL de $4,88 \times 10^5 \pm 0,859 \times 10^5$ para os protozoários holótricos e de $3,54 \times 10^6 \pm 0,393 \times 10^6$ para os protozoários entodiniomorfos.

5.3.3 Composição em ácidos gordos da digesta abomasal

A concentração total de AG e a composição em AG da digesta abomasal dos borregos alimentados com as dietas experimentais encontram-se na Tabela 5.3. A concentração total de AG na digesta abomasal foi em média 57,6 mg/g MS e não apresentou diferenças entre dietas. Apenas alguns AG foram afetados pelos tratamentos. Nos borregos alimentados com as dietas controlo, B e V o principal AG presente na digesta abomasal foi o $t10-18:1$ (≈ 30 g/100 g do total de AG) seguido do $18:0$ (≈ 22 g/100g do total de AG), enquanto nos borregos alimentados com a dieta BV o principal AG foi o $18:0$ (34,2 g/100 g do total de AG) seguido do $t10-18:1$ (20,1 g/100 g do total de AG). As proporções de $18:2n-6$ e $18:3n-3$ foram notavelmente constantes entre tratamentos, apresentando valores médios de 5,5 e 2,6 g/100 g do total de AG, respetivamente. Comparativamente à dieta V, a dieta controlo diminuiu ($P<0,05$) o $14:0$ e a dieta B diminuiu o $16:0$. A dieta B reduziu o $t11-18:1$, comparativamente à dieta controlo. A dieta BV reduziu ($P<0,05$) o $t10-18:1$, comparativamente às dietas C e B, e tendeu ($P=0,054$) a aumentar o $18:0$, comparativamente às outras dietas. Além disso, a dieta BV diminuiu ($P<0,05$) o $c9-18:1$, comparativamente à dieta V, e o $c11-18:1$, comparativamente à dieta controlo. O $c9,t11-18:2$ apresentou teores muito baixo e não foi detetado em 13 das 40 amostras.

O total de intermediários da BH tenderam ($P=0,060$) a ser reduzidos pela dieta BV, comparativamente às restantes dietas, e a dieta B claramente aumentou ($P<0,001$) o rácio $t10/t11$ comparativamente às outras dietas.

Tabela 5.3– Composição em ácidos gordos da digesta abomasal de borregos alimentados com a dieta controlo (C, sem argila adicionada) ou com dietas com bentonite (B), vermiculite (V) ou com ambas (BV) as argilas como adsorventes de óleos vegetais.

| | Tratamentos | | | | SEM | valor de <i>P</i> |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|-------------------|
| | C | B | V | BV | | |
| AG totais (mg/g MS) | 60,7 | 60,3 | 59,8 | 49,7 | 7,18 | 0,62 |
| Ácidos gordos (g/100 g AG totais) | | | | | | |
| 12:0 | 1,53 | 1,76 | 1,69 | 1,51 | 0,162 | 0,69 |
| 14:0 | 1,36 ^b | 1,46 ^{ab} | 1,59 ^a | 1,42 ^{ab} | 0,059 | 0,031 |
| i-15:0 | 0,08 | 0,07 | 0,07 | 0,07 | 0,009 | 0,77 |
| a-15:0 | 0,42 | 0,34 | 0,41 | 0,40 | 0,033 | 0,39 |
| 15:0 | 0,22 | 0,18 | 0,22 | 0,22 | 0,018 | 0,24 |
| 16:0 | 10,8 ^{ab} | 10,6 ^b | 11,5 ^a | 10,9 ^{ab} | 0,18 | 0,023 |
| 17:0 | 0,26 | 0,22 | 0,25 | 0,27 | 0,027 | 0,66 |
| 18:0 | 21,1 | 24,8 | 20,4 | 34,2 | 3,58 | 0,054 |
| Isómeros 18:1 | | | | | | |
| <i>t</i> 6 + <i>t</i> 7 + <i>t</i> 8 | 2,36 | 1,65 | 2,04 | 2,15 | 0,267 | 0,34 |
| <i>t</i> 9 | 1,33 | 0,90 | 1,12 | 1,31 | 0,171 | 0,28 |
| <i>t</i> 10 | 31,0 ^a | 31,8 ^a | 27,5 ^{ab} | 20,1 ^b | 2,96 | 0,048 |
| <i>t</i> 11 | 3,32 ^a | 1,96 ^b | 3,82 ^{ab} | 2,41 ^{ab} | 0,560 | 0,017 |
| <i>t</i> 12 | 0,75 | 0,68 | 0,45 | 0,74 | 0,107 | 0,14 |
| <i>t</i> 13 + <i>t</i> 14 | 1,99 | 1,84 | 1,84 | 2,28 | 0,266 | 0,63 |
| <i>t</i> 15 | 1,00 | 0,97 | 1,02 | 1,33 | 0,225 | 0,64 |
| <i>t</i> 16 | 0,48 | 0,49 | 0,55 | 0,62 | 0,087 | 0,66 |
| <i>c</i> 9 | 7,50 ^{ab} | 7,58 ^{ab} | 9,29 ^a | 6,29 ^b | 0,606 | 0,023 |
| <i>c</i> 11 | 0,99 ^a | 0,86 ^{ab} | 0,91 ^{ab} | 0,69 ^b | 0,064 | 0,030 |
| <i>c</i> 12 | 0,34 | 0,22 | 0,24 | 0,40 | 0,083 | 0,44 |
| <i>c</i> 13 | 0,13 | 0,13 | 0,14 | 0,13 | 0,024 | 0,99 |
| <i>c</i> 14 | 0,17 | 0,14 | 0,15 | 0,15 | 0,023 | 0,81 |
| <i>c</i> 15 | 0,78 | 0,83 | 1,00 | 1,77 | 0,397 | 0,70 |
| <i>c</i> 16 | 0,10 | 0,10 | 0,14 | 0,11 | 0,025 | 0,49 |
| Isómeros 18:2 | | | | | | |
| <i>tt</i> + ciclo-17 ¹ | 0,37 | 0,35 | 0,67 | 0,35 | 0,115 | 0,37 |
| <i>t</i> 8, <i>c</i> 13 / <i>c</i> 9, <i>t</i> 12 | 0,09 | 0,04 | 0,08 | 0,07 | 0,020 | 0,39 |
| <i>t</i> 9, <i>c</i> 12 | 0,22 | 0,19 | 0,19 | 0,27 | 0,053 | 0,71 |
| <i>t</i> 10, <i>c</i> 15 ² | 2,04 | 1,45 | 2,63 | 1,51 | 0,410 | 0,16 |
| <i>c</i> 9, <i>c</i> 12 (n-6) | 5,73 | 5,21 | 5,83 | 5,10 | 0,507 | 0,67 |
| <i>c</i> 9, <i>t</i> 11 | 0,11 | 0,07 | 0,10 | ND ⁵ | 0,021 | 0,53 |
| 18:3n-3 | 2,59 | 2,54 | 2,79 | 2,36 | 0,275 | 0,72 |
| 20:0 | 0,33 | 0,34 | 0,36 | 0,39 | 0,020 | 0,23 |
| 22:0 | 0,43 | 0,39 | 0,41 | 0,46 | 0,026 | 0,23 |
| 24:0 | 0,27 | 0,27 | 0,30 | 0,32 | 0,016 | 0,085 |
| Somatórios parciais | | | | | | |
| Dimetilacetais | 0,21 | 0,13 | 0,23 | 0,21 | 0,031 | 0,19 |
| Total de IBH dos C18 ³ | 46,0 | 43,2 | 43,5 | 35,0 | 2,74 | 0,060 |
| Rácio <i>t</i> 10/ <i>t</i> 11-18:1 | 9,7 ^b | 16,7 ^a | 11,4 ^b | 8,0 ^b | 1,13 | <0,001 |
| Biohidrogenação ⁴ | | | | | | |
| 18:2n-6 | 83,6 | 85,0 | 83,0 | 85,3 | 1,48 | 0,66 |
| 18:3n-3 | 90,0 | 90,2 | 89,2 | 90,9 | 1,07 | 0,71 |

¹– isómeros *trans,trans*-18:2 + Ciclo-17,11-ciclohexil-11:0; ²– O pico contém cerca de 90-94% de *t*10,*c*15-18:2 e 6 a 10% de *t*11,*c*15-18:2; ³– Total de intermediários da biohidrogenação; ⁴– Expresso em g/100 g de cada AG C18; ⁵– Não detetado.

5.3.4 Lípidos totais e composição em ácidos gordos da carne

O teor em lípidos e a composição em AG da carne dos borregos não apresentou diferenças entre tratamento, exceto em 3 AG minoritários (a-15:0, c9-14:1 e 20:0) que apresentaram diferenças ligeiras, mas significativas ($P<0,05$). Deste modo, na Tabela 5.4 apresenta-se a média global dos 40 borregos e respetivo desvio padrão (DP). Quantitativamente, os principais AG foram o c9-18:1, 16:0 e 18:0, que apresentaram valores médios para as dietas de 23,6, 19,8 e 13,6 g/100 g do total de AG, respetivamente. De um modo geral, as amostras de carne recolhidas nos borregos alimentados com as dietas experimentais apresentaram teores muito elevados de t10-18:1 ($\approx 10,7$ g/100 g do total de AG) e de t10,c15-18:2 ($\approx 2,0$ g/100 g do total de AG), enquanto os teores de t11-18:1 ($\approx 0,89$ g/100 g do total de AG) e de c9,t11-/t7,c9-18:2 ($\approx 0,21$ g/100 g do total de AG) foram bastante baixos. O pico comum ao c9,t11-/t7,c9-18:2 compreende cerca de 60 a 80% de c9,t11-18:2, confirmado por análise GC complementar com uma coluna iónica capilar, o que significa que a concentração de c9,t11-18:2 se estima ser tão baixa como 0,15 g/100g do total de AG. Não foi observado qualquer efeito das dietas sobre o 18:2n-6, 18:3n-3 ou sobre os PUFA de cadeia muito longa, embora o elevado teor em 18:3n-3 (≈ 2 g/100 g do total de AG) reflita claramente o facto de os animais terem sido alimentados com uma dieta suplementada com uma mistura de óleos vegetais contendo óleo de linhaça.

5.4 Discussão

Os resultados aqui apresentados sugerem claramente que, quer a bentonite quer a vermiculite, utilizadas como adsorventes de óleos vegetais em dietas à base alimento concentrado, foram ineficazes na proteção dos PUFA em relação à BH ruminal bem como na prevenção do *shiffttrans*-10. De facto, nenhum dos resultados aqui apresentados aponta para uma redução na BH ruminal do 18:2n-6 e do 18:3n-3, uma vez que não foram detetadas diferenças nestes AG ao nível da digesta abomasal ou ao nível da carne. O fluxo de AG para o abomaso não foi medido, o que impede um efetivo balanço ruminal. Contudo, se a adsorção dos óleos às argilas tivesse resultado em algum grau de proteção dos PUFA contra a BH ruminal teria sido possível observar um aumento da proporção de C18 PUFA no total de AG presentes na digesta abomasal e, em última instância, nos AG da carne. Tal como é discutido em Fievez et al. (2007), a BH ruminal dos C18 PUFA pode ser estimada, com uma boa precisão, a partir das concentrações de 18:2n-6 e 18:3n-3 presentes na dieta e na digesta abomasal, assumindo um balanço ruminal neutro de AG C18. As nossas estimativas da BH ruminal do 18:2n-6 e do 18:3n-3 mostram não existir qualquer efeito dos tratamentos, confirmando resultados anteriores da nossa equipa com bentonite incorporada em dietas à base de forragem suplementadas com óleos vegetais administradas a borregos

Tabela 5.4– Médias dos lípidos totais (g/100 g de carne) e da composição em ácidos gordos (g/100 g do total de AG) da carne de borregos observados com as dietas (média \pm DP, n=40).

| Item | Média \pm DP | Item | Média \pm DP |
|--------------------------------|-----------------|--------------------------------|-----------------|
| i-14:0 | 0,17 \pm 0,09 | 18:0 | 13,6 \pm 2,26 |
| 14:0 | 2,24 \pm 0,37 | Isómeros 18:1 | |
| 14:0-6Me | 0,06 \pm 0,02 | t6+t7+t8 | 0,35 \pm 0,13 |
| 14:0-4Me | 0,09 \pm 0,02 | t9 | 0,34 \pm 0,14 |
| i-15:0 | 0,05 \pm 0,05 | t10 | 10,7 \pm 2,67 |
| a-15:0 | 0,12 \pm 0,04 | t11 | 0,89 \pm 0,96 |
| c9-14:1 | 0,09 \pm 0,02 | t12 | 0,14 \pm 0,10 |
| 15:0 | 0,46 \pm 0,09 | c9 ⁵ | 23,6 \pm 2,42 |
| i-16:0 | 0,10 \pm 0,03 | t15 | 0,62 \pm 0,53 |
| 16:0 | 19,8 \pm 1,32 | c11 | 1,47 \pm 0,34 |
| 16:0-6Me | 0,08 \pm 0,04 | c12 | 0,34 \pm 0,21 |
| 16:0-8Me | 0,08 \pm 0,03 | c13 | 0,14 \pm 0,06 |
| 16:0-12Me/t9-16:1 | 0,32 \pm 0,09 | c15 | 0,56 \pm 0,37 |
| c7-16:1 | 0,15 \pm 0,04 | c16 | 0,09 \pm 0,04 |
| i-17:0 | 0,20 \pm 0,05 | Isómeros 18:2 | |
| c9-16:1 | 1,07 \pm 0,21 | t9t12 | 0,08 \pm 0,03 |
| a-17:0 | 0,34 \pm 0,06 | t8,c12 | 0,06 \pm 0,04 |
| 17:0 | 1,69 \pm 0,32 | c9,t13 | 0,44 \pm 0,11 |
| c9-17:1 | 0,70 \pm 0,16 | t8,c13 + c9,t12 | 0,18 \pm 0,10 |
| 20:0 | 0,11 \pm 0,04 | t9,c12 | 0,14 \pm 0,11 |
| c11-20:1 | 0,14 \pm 0,04 | t10,c15 ⁶ | 2,03 \pm 0,62 |
| 20:2n-6 | 0,10 \pm 0,03 | c9,c12 (n-6) | 7,82 \pm 0,62 |
| 20:3n-6 | 0,17 \pm 0,05 | c12,c15 | 0,18 \pm 0,11 |
| 20:3n-3 | 0,09 \pm 0,05 | c9,t11 / t7,c9 ⁷ | 0,21 \pm 0,09 |
| 20:4n-6 | 1,77 \pm 0,61 | t9,c11 | 0,14 \pm 0,05 |
| 20:5n-3 | 0,41 \pm 0,12 | t10,c12 | 0,08 \pm 0,05 |
| 22:4n-6 | 0,19 \pm 0,06 | 18:3n-3 | 2,04 \pm 0,42 |
| 22:5n-3 | 0,54 \pm 0,14 | | |
| 22:6n-3 | 0,14 \pm 0,05 | Rácio t10-/t11-18:1 | 19,6 \pm 13,9 |
| Somatórios | | | |
| DMA ¹ | 3,09 \pm 0,99 | Total IBH dos C18 ⁸ | 16,7 \pm 2,22 |
| BCFA ² | 1,78 \pm 0,27 | AG C18 | 65,2 \pm 1,55 |
| SFA ³ | 38,0 \pm 2,77 | t-MUFA ⁹ | 12,7 \pm 2,67 |
| c-MUFA ⁴ | 28,3 \pm 2,89 | n-6 PUFA | 10,3 \pm 2,27 |
| Total de PUFA | 16,4 \pm 3,03 | n-3 PUFA | 5,32 \pm 1,00 |
| Lípidos totais (g/100 g carne) | 2,5 \pm 0,40 | AG totais (mg/g MS) | 69,6 \pm 23,5 |

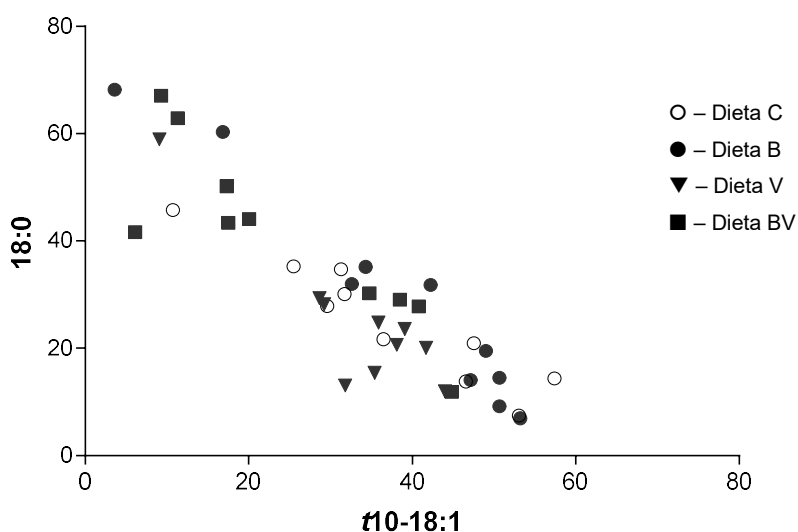
¹ – Dimetilacetais; ² – Ácidos gordos de cadeia ramificada, incluindo os AG iso (i-), anteiso (a-) e AG de cadeia ramificada não terminal; ³ – Ácidos gordos saturados; ⁴ – Ácidos gordos monoinsaturados com ligações duplas de configuração *cis*; ⁵ – Contém c10-, t13-, t14-18:1 como componentes menores; ⁶ – Contém t11,c15-18:2 como componente menor (menos de 8%); ⁷ – O isómero t7,c9-18:2 constitui cerca de 20 to 40% do pico co-eluído; ⁸ – Total de intermediários da bioidrogenação; ⁹ – Ácidos gordos monoinsaturados com ligações duplas de configuração *trans*.

(Jerónimo et al., 2010b). Contudo, os resultados aqui apresentados contrastam com os de Sinclair et al. (2005) que observaram um efeito protetor da vermiculite em relação à BH ruminal dos C18 PUFA presentes no óleo de linhaça. No entanto, apesar de Sinclair et al. (2005) terem verificado um maior fluxo de 18:3n-3 para o duodeno com óleo de linhaça adsorvido em vermiculite, os autores não detetaram qualquer aumento na concentração de 18:3n-3 no plasma dos borregos, sugerindo que a absorção possa ter sido reduzida. Não detetamos qualquer diferença entre tratamentos nas concentrações de 18:2n-6 e 18:3n-3 na

carne dos nossos borregos. Para além disso, as dietas contendo argilas apresentavam concentrações de AG totais mais baixas, embora as concentrações em AG totais na digesta abomasal fossem semelhantes entre tratamentos. Os teores mais baixos em AG das dietas contendo argilas provavelmente devem-se a perdas de óleos durante o passo adicional de mistura dos óleos com a argila antes da sua incorporação com os restantes ingredientes. Deste modo, a adsorção dos AG nas argilas não protegeu os AG da dieta da BH ruminal, não tendo sido detetada qualquer indicação de uma menor disponibilidade dos PUFA pós-absorção.

A outra hipótese testada era que as argilas poderiam atenuar o *shifttrans*-10 no rúmen de borregos alimentados com dietas à base de alimentos concentrados ricos em óleos vegetais. Os dados aqui apresentados, no entanto, negam completamente essa hipótese. Todos os borregos em todos os tratamentos exibiram um profundo *shifttrans*-10, avaliado pelas concentrações de *t*10-18:1 e *t*11-18:1 na digesta abomasal e na carne. A quantidade de *t*10-18:1 na digesta abomasal foi bastante variável, com valores entre 3 a 48 g/100g do total de AG. Contudo, esta variabilidade não se encontra relacionada com aumentos no *t*11-18:1, que permaneceu sempre baixo, mas sim com o teor de 18:0 como se mostra no Gráfico 5.1.

Gráfico 5.1– Relação entre o teor de *t*10-18:1 e de 18:0 (g/100 g do total de AG) na digesta abomasal de borregos alimentados com a dieta controlo (C, sem argila adicionada) ou com dietas com bentonite (B), vermiculite (V) ou com ambas (BV) as argilas como adsorventes de óleos vegetais.



O mais baixo valor médio de *t*10-18:1 observado na digesta abomasal com o tratamento BV é apenas um reflexo de um processo de BH mais completo, com uma maior produção de 18:0, e não de um aumento na produção de *t*11-18:1. Padrões de BH incompletos, com grandes acumulações de intermediários da BH, têm sido interpretados como uma resposta

do ecossistema microbiano ruminal ao stress provocado pelo baixo pH ruminal ou pela elevada concentração de PUFA no rúmen (Bessa et al., 2000) ou ao efeito tóxico destes fatores na comunidade microbiana especializada na formação de 18:0 (Maia et al., 2007). Como as concentrações em PUFA nas dietas com argilas não diferiram, o processo de BH mais completo observado com a dieta BV pode estar associado a um efeito tampão, uma vez que a suplementação das dietas com substâncias tampão pode reduzir a quantidade de intermediários da BH (Cabrita et al., 2009; Kalscheur et al., 1997). Contudo, não é clara a razão pela qual as duas argilas combinadas promovem uma maior completude da BH ruminal e quando administradas separadamente não. Os nossos dados relativos ao pH ruminal foram recolhidos imediatamente após o abate dos borregos e, por isso, não refletem a real variação circadiana do pH.

As diferenças no padrão de BH ruminal observadas na digesta abomasal com a dieta BV não se refletem de forma clara no perfil de AG da carne. Isto sugere que o efeito da dieta BV sobre o padrão de BH ruminal não foi continuado ao longo das 6 semanas de ensaio, uma vez que os intermediários da BH depositados nos lípidos da carne refletem as condições que foram mantidas no rúmen ao longo de todo o período de engorda.

A ocorrência do *shiftrans*-10 em ruminantes tem sido de forma clara associado com o fornecimento alimentar de 18:2n-6 e não tanto com o de 18:3n-3 (Aldai et al., 2013; Zened et al., 2011). A BH do 18:3n-3 pela via do *trans*-10 não está ainda bem esclarecida como foi recentemente discutido por Alves and Bessa (2014), no entanto, a grande acumulação quer de *t*10-18:1 quer de *t*10,c15-18:2 observada na digesta abomasal e nos lípidos da carne sugerem que o 18:3n-3 da dieta foi extensamente biohidrogenado pela via alternativa do *trans*-10. De acordo com o discutido por Bessa et al. (2015), os ruminantes que exibem um *shiftrans*-10 tão marcado como o observado aqui, apresentam normalmente teores muito baixos de *c*9,*t*11-18:2 na carne.

As estratégias nutricionais para modular a composição em AG da carne em ruminantes podem ter implicações no desempenho produtivo dos animais e nas características de qualidade da carne pelo que é importante que sejam avaliadas. Os resultados aqui apresentados não mostram qualquer alteração significativa devido às dietas no desempenho produtivo dos animais ou nas características de qualidade da carne avaliadas, embora apontem para uma maior proporção de músculo na sela + pá e para uma menor acumulação de gordura dissecável com a dieta BV. Não é clara a razão pela qual a combinação das duas argilas possa ter alterado a composição do ganho de peso promovendo a deposição de proteína em detrimento da deposição de gordura. Resultados semelhantes foram relatados por Khadem et al. (2007), onde borregos alimentados com bentonite apresentaram uma maior área do músculo *longissimus* e uma menor espessura de gordura subcutânea e de gordura depositada na cauda comparativamente a uma dieta controlo. Do nosso

conhecimento não existem trabalhos semelhantes com vermiculite. A bentonite tem sido, embora de forma pouco consistente, associada com o aumento do crescimento da lã em ovinos (Murray et al., 1992) supostamente devido a um efeito sobre a população de protozoários ciliados do rúmen, associado a um aumento do fluxo de azoto microbiano para o intestino (Ivan et al., 1992). É pouco provável que este tipo de explicação se aplique aos nossos resultados uma vez que não observámos qualquer efeito significativo das argilas nas contagens de protozoários ciliados do rúmen e que a bentonite e a vermiculite isoladamente não tiveram qualquer efeito significativo sobre a composição da carcaça em músculo e gordura.

5.5 Conclusões

A adição de argilas como adsorventes de óleos a dietas ricas em alimentos concentrados suplementadas com óleos vegetais não protegeu os PUFA da biohidrogenação ruminal nem preveniu a BH pela via do *trans*-10 em borregos.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer aos funcionários da Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Produção Animal e Saúde (UEISPSA-INIAV), em particular à Paula Santos, pela sua colaboração no abate dos animais, bem como pelo trabalho desenvolvido no âmbito da avaliação das características de qualidade das carcaças e da carne, e ao José Batista pela ajuda prestada no âmbito da avaliação bromatológica dos alimentos. Os autores gostariam igualmente de agradecer à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) pelas bolsas de investigação concedidas a MA Oliveira (SFRH/PROTEC/67566/2010) e SP Alves (SFRH/BPD/76836/2011) e pelos projetos PTDC/CVT/120122/2010 e UID/CVT/00276/2013.

CAPÍTULO 6

Discussão geral

A produção intensiva de animais ruminantes recorre frequentemente a alimentos concentrados, ricos em amido, que promovem elevados crescimentos e uma elevada atividade lipogénica. Contudo, este tipo de dietas conduz a uma modificação das vias de BH, levando a uma acumulação de $t10-18:1$, em vez do desejável $t11-18:1$, que não podendo ser transformado posteriormente em CLA, se acumula nos tecidos e no leite (Bessa et al., 2015). Além do mais, o $t10-18:1$ é potencialmente mais nefasto para a saúde dos consumidores do que o $t11-18:1$ (Bauchart et al., 2007; Gebauer et al., 2011; Roy et al., 2007). Assim, estratégias para aumentar a produção de $t11-18:1$ (e CLA) e mitigar a produção de $t10-18:1$ em animais alimentados com dietas à base de alimentos concentrados têm de ser encontradas.

Para a realização da presente tese tivemos como objetivo melhorar o perfil de AG da carne de borregos alimentados com dietas à base de alimento concentrado suplementadas com óleos vegetais ricos em PUFA. De modo a atingir esse objetivo foram utilizadas duas estratégias nutricionais colocadas em prática através da realização de 2 ensaios de alimentação com borregos. Nesses ensaios procurámos, por um lado, fornecer substrato para a BH ruminal, suplementando as dietas com PUFA, de modo a contribuir para o aumento da deposição de PUFA nos lípidos da carne e, por outro, reduzir a ocorrência do *shifttrans*-10 das vias de BH ruminal, variando o nível e a degradabilidade ruminal do amido, no 1º ensaio, e utilizando argilas como adsorventes dos lípidos adicionados, no 2º ensaio, como forma de proteger os PUFA da dieta da BH ruminal e/ou reduzir a ocorrência do *shifttrans*-10 das vias de BH ruminal, de modo a aumentar a produção de $t11-18:1$ e $c9,t11-18:2$ no rúmen e a sua deposição na gordura intramuscular da carne de borrego.

No presente capítulo iremos discutir os efeitos das estratégias nutricionais utilizadas no desempenho produtivos dos animais, nas características de qualidade das carcaças e da carne bem como a sua eficácia na modulação do processo de BH ruminal e consequentemente, na melhoria do perfil de AG da carne de borrego.

6.1 Efeitos das estratégias nutricionais na modulação do processo de BH ruminal

Como vimos anteriormente (Capítulo 2) de modo a aumentar os AG disponíveis para o metabolismo ao nível dos tecidos é necessário aumentar a absorção de PUFA o que pode ser realizado suplementando as dietas com fontes de PUFA (Doreau et al., 2016). No presente trabalho foi utilizada uma mistura de óleos (óleo de linhaça e girassol, 2:1) referenciada como sendo eficaz na indução de aumentos simultâneos de $c9,t11-18:2$ e de n-3 PUFA na carne de borregos alimentados com dietas à base de forragem (Jerónimo et al., 2009).

As dietas utilizadas neste trabalho apresentavam um nível baixo de forragem (cerca de 10%), característico das dietas de engorda, e que têm sido frequentemente associadas com um pronunciado *shifttrans*-10 (Aldai et al., 2013; Bessa et al., 2015, 2005; Bravo-Lamas et al., 2016; Rosa et al., 2014). Quando se estabelece o *shift trans*-10 das vias de BH ruminal, qualquer tentativa para aumentar o $c9,t11-18:2$ e os n-3 PUFA na carne através da suplementação das dietas com lípidos resulta numa acumulação muito expressiva de $t10-18:1$ sem qualquer aumento relevante de $t11-18:1$ e $c9,t11-18:2$ (Bessa et al., 2015). De facto, os nossos resultados mostram que os níveis de n-3 PUFA da carne, obtidos em ambos os ensaios (4,2% e 5,3% do total de AG, no 1º e no 2º ensaio, respetivamente), são compatíveis com os referidos por Jerónimo et al. (2009), com dietas à base de luzerna desidratada suplementada com uma mistura de óleos equivalente à utilizada no presente trabalho. Contudo, no que se refere aos níveis de $c9,t11-18:2$ (<0,30% e 0,21% do total de AG, no 1º e no 2º ensaio, respetivamente) e $t11-18:1$ (0,66% e 0,89% do total de AG, no 1º e no 2º ensaio, respetivamente) os valores observados foram extremamente baixos. Apesar das diferenças observadas no perfil de AG, todas as dietas em ambos os ensaios, resultaram numa grande acumulação de $t10-18:1$ nos lípidos da carne associados a níveis muito baixos de $t11-18:1$ e, consequentemente, em rácios $t10/t11-18:1$ muito elevados.

A ocorrência do *shifttrans*-10 tem sido claramente associada à suplementação das dietas com 18:2n-6 e não tanto com 18:3n-3 (Aldai et al., 2013; Zened et al., 2011). Contudo, tendo em atenção a elevada concentração de $t10-18:1$ e a concentração modesta de $t11-18:1$ presente nos lípidos da carne, é plausível que uma parte considerável do $t10-18:1$ seja resultante da BH ruminal do 18:3n-3. De facto, a presença de um pico relativamente grande de $t10,c15-18:2$ nos AG presentes na carne e que, em ambos os ensaios, foi o segundo intermediário da BH presente na carne (representando cerca de 7,4% e 12,2% do total de intermediários da BH, respetivamente, no 1º e 2º ensaio), é indicador de que o 18:3n-3 estará a ser biohidrogenado através da via *trans*-10 alternativa (Alves and Bessa, 2014).

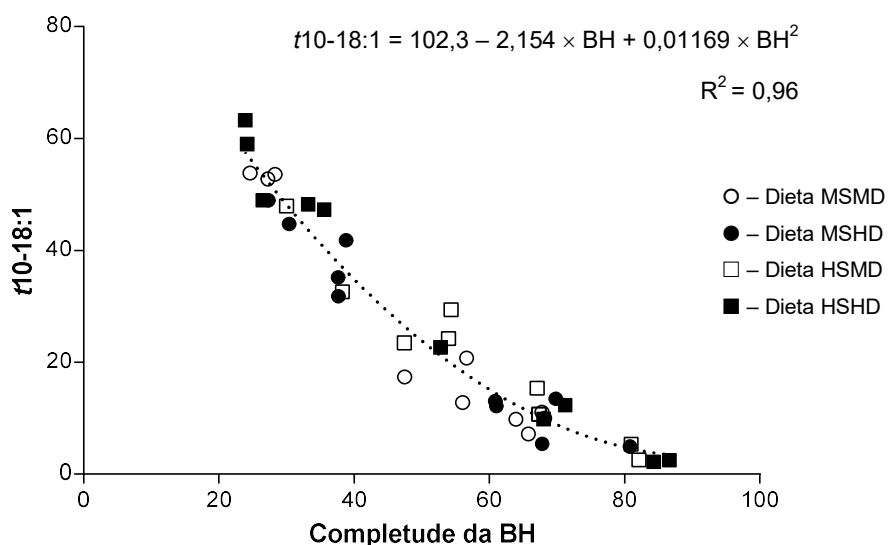
No primeiro ensaio, foi claro que o nível de amido foi determinante da magnitude da acumulação do $t10-18:1$ e do rácio $t10/t11-18:1$, sem que tenha sido observado sobre os mesmos qualquer efeito significativo da degradabilidade ruminal do amido. De facto, as dietas ricas em amido, mesmo quando não suplementadas com uma fonte de PUFA, são capazes de induzir o *shifttrans*-10 (Alves et al., 2013; Bas et al., 2007; Daniel et al., 2004; Mele et al., 2014) embora a adição suplementar de PUFA a esse tipo de dietas amplifique, de forma marcada, o *shifttrans*-10 (Bessa et al., 2015).

As variações nas proporções molares dos AGV (France and Dijkstra, 2005) produzidos no rúmen bem como no perfil de BCFA (Fievez et al., 2012; Vlaeminck et al., 2006a) e DMA (Minato et al., 1988; Miyagawa, 1982; Zorec et al., 2011) têm sido associadas com alterações na microbiota ruminal. Deste modo, o aumento dos i-BCFA e i-DMA no conteúdo

ruminal e nas BMR bem como o aumento da proporção molar de acetato associada à diminuição do propionato sugerem que a redução do nível de amido terá induzido um aumento no número ou da atividade das bactérias fibrolíticas. No entanto, o putativo aumento no número ou na atividade das bactérias fibrolíticas não resultou em qualquer alteração na extensão ou na completude da BH dos AG C18. Deste modo, mesmo o nível mais baixo de amido parece ter sido suficientemente alto para prevenir um exuberante *shifttrans*-10. O nível máximo de amido na dieta que não favorece a ocorrência do *shifttrans*-10 não é conhecido, embora um trabalho recente de Francisco et al. (2016) sugira que um nível de amido de cerca de 25% estará próximo do limite onde o *shifttrans*-10 pode ser facilmente induzido por outros ingredientes da dieta.

Como o nível de *t*11-18:1 permaneceu baixo e inalterado pelos tratamentos, uma explicação possível para o aumento do *t*10-18:1 é o facto de o aumento do nível de amido ter promovido uma BH ruminal menos completa. De facto, o teor de *t*10-18:1 no abomaso apresentou uma relação significativa com a completude da BH ruminal como se mostra no Gráfico 6.1.

Gráfico 6.1– Relação observada no 1º ensaio entre o teor de *t*10-18:1 na digesta abomasal (em g/100 g do total de C18) e a completude da bioidrogenação ruminal (em g/100 g do total de PUFA).



Assim, os nossos resultados sugerem que as estratégias para mitigar o *shifttrans*-10, durante a engorda de borregos, devem ser dirigidas para a redução da ingestão de amido e não tanto para a alteração da proporção das fontes de amido de modo a reduzir a sua degradabilidade ruminal. Poderá, no entanto, ser argumentado que as diferenças entre dietas, no que se refere à estimativa da degradabilidade ruminal do amido, foram baixas e que as diferenças reais terão sido ainda mais baixas devido à mistura de cereais com diferentes padrões de fermentação (Yahaghi et al., 2013) e à moenda e peletização dos

alimentos concentrados (Svihus et al., 2005). De facto, Mohammed et al. (2010) mostraram que o aumento da degradabilidade ruminal do amido em bovinos de leite, com dieta com mais de 40% de forragem, resultou num aumento do teor de $t_{10-18:1}$, $t_{11-18:1}$ e do rácio $t_{10}/t_{11-18:1}$ no rúmen e no leite. Os resultados de Jurjanz et al. (2004), com trigo e batata, e de Lechartier and Peyraud (2011), com trigo e milho, apontam no mesmo sentido. Contudo, no fluido ruminal de bovinos de carne (com cevada vs. milho em Gimeno et al., 2015) e na carne de borregos (com trigo vs. milho em Berthelot et al., 2010), com dietas com uma baixa proporção de forragem, as concentrações de $t_{10-18:1}$ e $t_{11-18:1}$ não sofreram alterações devidas à variação da degradabilidade ruminal do amido. Deste modo, os resultados aqui apresentados parecem confirmar que a redução da degradabilidade ruminal do amido, através da substituição de fontes de amido, em dietas de engorda de ruminantes, poderá não ser uma estratégia eficaz capaz de mitigar o *shiftrans*-10.

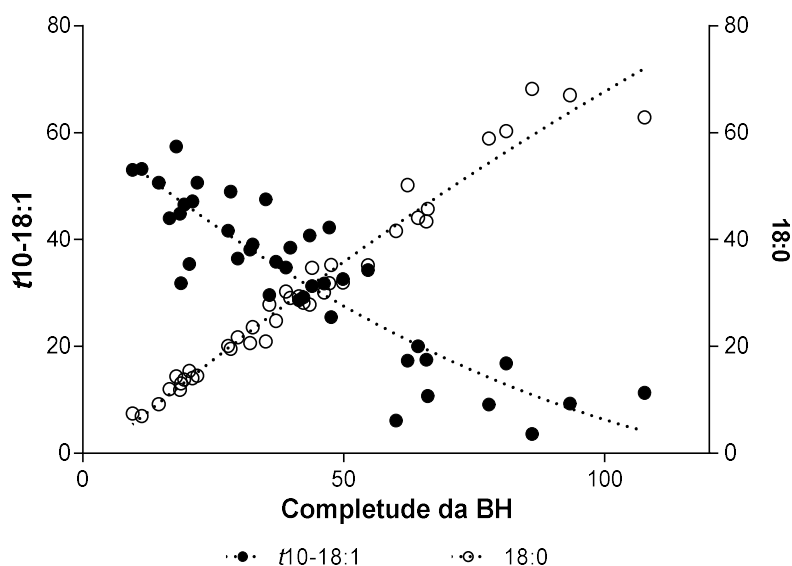
No segundo ensaio, utilizámos um alimento concentrado com características similares, do ponto de vista nutritivo, à dieta MSHD e que, numa análise preliminar, foi identificada como apresentando melhores teores de $t_{11-18:1}$ e $c_{9,t_{11-18:2}}$. A este alimento concentrado adicionámos argilas como forma de veicular a mistura de óleo utilizada neste trabalho, de acordo com a estratégia nutricional planeada para a realização do 2º ensaio.

Os resultados aqui apresentados mostram claramente que, quer a bentonite quer a vermiculite, utilizadas como adsorventes de óleos vegetais em dietas à base de alimento concentrado, foram ineficazes na proteção dos PUFA em relação à BH ruminal bem como na prevenção do *shiftrans*-10. De facto, nenhum dos resultados apontam para uma redução na BH ruminal do $18:2n-6$ e do $18:3n-3$, uma vez que não foram detetadas diferenças nestes AG ao nível da digesta abomasal ou ao nível da carne. As nossas estimativas da BH ruminal do $18:2n-6$ e do $18:3n-3$ mostram não existir qualquer efeito dos tratamentos, confirmando resultados anteriores com bentonite incorporada em dietas à base de forragem suplementadas com óleos vegetais administradas a borregos (Jerónimo et al., 2010b) mas, contudo, contrastando com os resultados de Sinclair et al. (2005) que observaram um efeito protetor da vermiculite em relação à BH ruminal dos C18 PUFA presentes no óleo de linhaça.

A outra hipótese testada era que as argilas poderiam atenuar o *shiftrans*-10 no rúmen de borregos alimentados com dietas ricas em óleos vegetais e à base de alimentos concentrados. Os dados aqui apresentados, no entanto, negam completamente essa hipótese. Todos os borregos sujeitos às diferentes dietas exibiram um profundo *shiftrans*-10, avaliado pelas concentrações de $t_{10-18:1}$ e $t_{11-18:1}$ na digesta abomasal e na carne. A quantidade de $t_{10-18:1}$ na digesta abomasal foi bastante variável, com valores entre 3 a 48 g/100 g do total de AG. Contudo, esta variabilidade não se mostrou estar relacionada com aumentos no $t_{11-18:1}$, que permaneceu sempre baixo, mas sim com o teor de $18:0$, pelo

que o mais baixo valor médio de $t10-18:1$ observado na digesta abomasal com o tratamento BV foi apenas um reflexo de um processo de BH mais completo (Gráfico 6.2) e não de um aumento na produção de $t11-18:1$. Mais uma vez, e à semelhança do observado no 1º ensaio, o teor de $t10-18:1$ apresentou uma relação significativa com a completude da BH (Gráfico 6.2). Padrões de BH incompletos, com grandes acumulações de intermediários da BH, têm sido interpretados como uma resposta do ecossistema microbiano ruminal ao *stress* provocado pelo baixo pH ruminal ou pela elevada concentração de PUFA no rúmen (Bessa et al., 2000) ou ao efeito tóxico destes fatores na comunidade microbiana especializada na formação de $18:0$ (Maia et al., 2007). O processo de BH mais completo observado com a dieta BV pode estar associado a um efeito tampão das argilas, uma vez que a suplementação das dietas com substâncias tampão pode reduzir a quantidade de intermediários da BH (Cabrita et al., 2009; Kalscheur et al., 1997). Contudo, não é clara a razão pela qual as duas argilas combinadas promovem uma maior completude da BH ruminal e quando administradas separadamente não. Os nossos dados relativos ao pH ruminal foram recolhidos imediatamente após o abate dos borregos e, por isso, não refletem a real variação circadiana do pH.

Gráfico 6.2– Relação observada no 2º ensaio entre o teor de $t10-18:1$ e de $18:0$ na digesta abomasal (em g/100 g do total de AG C18) e a completude da bioidrogenação ruminal (em g/100 g do total de AG C18).



Assim, os resultados do presente trabalho mostram claramente que as estratégias nutricionais utilizadas, baseadas na suplementação com PUFA, em dietas de engorda de borregos, são ineficazes como forma de enriquecer a carne de animais ruminantes em $t11-18:1$ e CLA (*i.e.*, $c9,t11-18:2$) devido ao estabelecimento de um extenso *shifttrans*-10 nas vias de BH ruminal.

6.2 Efeitos das estratégias nutricionais na melhoria do perfil de AG da carne de borrego

Alterar o perfil de AG da carne e do leite de animais ruminantes pode constituir uma forma de diminuir a ingestão de SFA e de aumentar a ingestão de *c*-MUFA e PUFA sem implicar alterações nos hábitos de consumo, permitindo ao mesmo tempo manter os benefícios associados com os macro e micronutrientes presentes neste tipo de alimentos (Shingfield et al., 2013).

O valor nutricional dos lípidos nas dietas para humanos, de acordo com FAO (2010) baseia-se no teor em lípidos totais e na composição em AG, nomeadamente na sua composição em SFA, AG *trans*, MUFA, PUFA, n-6 e n-3 PUFA, 18:3n-3 e n-3 LC-PUFA (Σ EPA+DHA). As recomendações nutricionais relativas à ingestão destes AG são referenciadas com base na sua contribuição para a ingestão total de energia (FAO, 2010). Assim, tendo em conta que as necessidades energéticas para humanos adultos são, em média e de acordo com EFSA (2013), 2000 kcal/d, e considerando que os lípidos apresentam um valor energético médio de 9 kcal/g (INSA, 2015), determinámos a contribuição de 100 g de carne, dos borregos sujeitos às dietas utilizadas no presente trabalho, para a Dose Diária Recomendada (DDR) de determinado AG ou classe de AG de acordo com as recomendações da FAO (2010) (Tabela 6.1).

Tendo em atenção os resultados apresentados na Tabela 6.1 (adicionalmente consultar o Anexo 1) e de acordo com o regulamento (CE) n.º 1924/UE, 2006 (UE, 2010, 2006) podemos classificar a carne produzida pelos borregos em ambos os ensaios como de baixo teor em gordura (menos de 3 g de gordura/100 g de carne) e de baixo teor em SFA (menos de 1,5 g de SFA+AG *trans*/100 g de carne e SFA+ AG *trans* < 10%E). Os AG *trans* presentes na carne corresponderam a 9,7 e 11,7% da DDR, respetivamente, no 1º e 2º ensaio. Contudo, o *t*10-18:1 foi o principal *t*-MUFA presente na carne em ambos os ensaios, com teores 5 a 25 vezes mais altos do que o isómero *t*11-18:1. Para além de ser considerado potencialmente prejudicial para a saúde humana, a presença de um elevado teor em *t*10-18:1, associado ao *shift trans*-10 das vias de BH ruminal, inviabiliza o enriquecimento da carne em AG benéficos para a saúde, como o *c*9,*t*11-18:2 e o *t*11-18:1 (Bessa et al., 2015). O efeito de muitos dos intermediários da BH ruminal presentes nos produtos dos ruminantes (muitos deles com ligações duplas com configuração *trans*) não estão estudados relativamente aos seus efeitos sobre a saúde humana (Aldai et al., 2013). Os estudos observacionais e metabólicos sugerem que os AG *trans* provenientes dos produtos dos ruminantes (carne e leite) não terão consequências adversas para a saúde humana (Aldai et al., 2013; Filip and Vidrih, 2012; Uauy et al., 2009) ao contrários dos AG *trans* de origem industrial. Porém, a carne de ruminantes produzida em sistema intensivo pode apresentar um elevado *shift*

Tabela 6.1 – Contribuição de 100 g de carne proveniente dos borregos alimentados com as dietas utilizadas no 1º e no 2º ensaio para a Dose Diária Recomendada relativas à ingestão total de gorduras e de ácidos gordos em humanos adultos de acordo com as recomendações nutricionais da FAO¹.

| Indicadores | Recomendações nutricionais ¹ | Para ingestão de 2000 kcal/d ² | % da Dose Diária Recomendada | | | | | | | | | |
|--------------------|---|---|------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|------------------|-----------|---------|---------|----|----|
| | | | 1º Ensaio | | | | | 2º Ensaio | | | | |
| | | | MSMD | MSHD | HSMD | HSMD | HSMD | C | B | V | BV | BV |
| Total de lípidos | 20-35% E | 400 a 700 kcal | 3,3-5,7 ^b | 3,6-6,3 ^a | 3,3-5,8 ^b | 3,9-6,8 ^a | 2,9-5,1 | 3,1-5,4 | 3,6-6,3 | 3,2-5,7 | | |
| SFA | <10% E | < 200 kcal | <3,9 ^a | <3,3 ^a | <2,9 ^b | <2,6 ^b | 2,2 | 2,7 | 2,9 | 2,7 | | |
| AG <i>trans</i> | <1% E | < 20 kcal | 10,8 | 7,8 | 9,1 | 9,2 | 10,2 | 12,8 | 12,7 | 11,1 | | |
| MUFA | Por diferença | 80 a 280 kcal | 3,3-11,6 [†] | 2,7-9,5 [†] | 2,6-9,0 | 2,2-7,7 | 1,9-6,3 | 2,5-8,2 | 2,5-8,2 | 2,4-7,9 | | |
| PUFA | 6-11% E | 120 a 220 kcal | 1,3-2,4 | 1,1-2,1 | 1,2-2,1 | 1,1-1,9 | 0,9-1,7 | 1,1-2,0 | 1,1-2,1 | 1,1-2,1 | | |
| n-3 PUFA | 0,5-2% E | 10 a 40 kcal | 2,2-8,8 [†] | 1,8-7,2 [†] | 1,7-6,7 | 1,6-6,4 | 1,6-6,3 | 1,9-7,7 | 2,2-8,8 | 2,0-8,2 | | |
| 18:3n-3 | >0,5% E | > 10 kcal | >3,7 ^a | >3,0 ^a | >2,8 ^b | >2,6 ^b | 2,5 | 3,0 | 3,2 | 3,1 | | |
| Σ(EPA+DHA) | 0,250 a 2 g/d | 0,250 a 2 g/d | 0,6-4,8 ^a | 0,6-5,1 ^a | 0,5-4,3 ^b | 0,5-4,3 ^b | 0,4-3,1 | 0,4-3,2 | 0,4-3,5 | 0,5-3,9 | | |
| n-6 PUFA | 2,5-9% E | 50 a 180 kcal | 1,1-3,8 | 0,9-3,4 | 1,0-3,5 | 0,9-3,2 | 0,7-2,6 | 0,8-3,0 | 0,8-3,0 | 0,9-3,1 | | |
| Outros indicadores | Valor indicativo | | MSMD | MSHD | HSMD | HSMD | C | B | V | BV | | |
| t10-18:1 | <1% E ³ | < 20 kcal | 6,0 | 3,9 | 5,5 | 6,0 | 7,2 | 9,2 | 7,7 | 6,9 | | |
| t11-18:1 | <1% E ³ | < 20 kcal | 0,8 [†] | 0,7 [†] | 0,5 | 0,5 | 0,7 | 0,4 | 1,2 | 0,9 | | |
| c9,t11-18:2 | 600-800 mg/d ⁴ | | 0,9-1,2 [†] | 0,9-1,2 [†] | 0,6-0,8 | 0,6-0,8 | 0,4-0,6 | 0,4-0,5 | 0,5-0,7 | 0,4-0,5 | | |
| CLA+19% t11-18:1 | 600-800 mg/d ⁴ | | 1,3-1,7 [†] | 1,3-1,7 [†] | 0,8-1,1 | 0,8-1,1 | 0,8-1,1 | 0,6-0,8 | 1,1-1,5 | 0,8-1,1 | | |
| Σ(EPA+DPA+DHA) | 0,250 a 2 g/d ⁵ | | 1,2-9,5 | 1,3-10,1 | 1,2-9,5 | 1,0-8,1 | 0,8-6,0 | 0,8-6,7 | 0,9-6,9 | 0,9-7,5 | | |
| Rácio n-6:n-3 | < 4 ⁶ | | 2,2 ^b | 2,4 ^b | 2,6 ^a | 2,6 ^a | 2,1 [†] | 2,0 | 1,8 | 2,0 | | |
| Rácio P:S | >0,45 ⁷ | | 0,33 ^b | 0,36 ^b | 0,38 ^a | 0,44 ^a | 0,29 | 0,29 | 0,25 | 0,29 | | |

¹ – de acordo com FAO (2010); ² – de acordo com EFSA (2013); ³ – considerando as recomendações para os AG *trans* de acordo com FAO (2010); ⁴ – de acordo com Siurana and Calsamiglia (2016); ⁵ – considerando as recomendações para os n-3 LC-PUFA de acordo com FAO (2010); ⁶ – de acordo com Wood et al. (1999); ⁷ – de acordo com o citado por Sinclair (2007); [†] – tendência para valores mais altos ($P<0,10$); índices diferentes na mesma linha em cada ensaio representam diferenças significativas ($P<0,05$).

trans-10, com teores elevados de *t*10-18:1 e muito baixo de *t*11-18:1 (Aldai et al., 2009; Bravo-Lamas et al., 2016) como mostram os resultados deste trabalho. De um modo geral, nenhum dos AG associados com o *shift trans*-10 tem sido associado com efeitos benéficos para a saúde embora não sejam conhecidas as consequências de um consumo regular de produtos edíveis de ruminantes, nomeadamente carne, com um pronunciado *shift trans*-10 (Aldai et al., 2013) como os aqui apresentados.

A utilização de uma mistura de óleos anteriormente indicada como capaz de reduzir o rácio n-6:n-3 da gordura intramuscular em borregos (Jerónimo et al., 2009) mostrou-se adequada permitindo obter, em ambos os ensaios, com dietas à base de alimentos concentrados, rácios inferiores a 4, valor referenciado como máximo nas dietas para humanos (Wood et al., 1999). De igual modo, permitiu obter rácios P:S próximos do mínimo recomendável (0,45 de acordo com o referido por Sinclair, 2007). A utilidade do rácio n-6:n-3 como indicador dos benefícios para a saúde cardiovascular foi entretanto questionada (FAO, 2010; Stanley et al., 2007), considerando-se atualmente que os benefícios dos n-3 PUFA estão associados principalmente com a ingestão absoluta de n-3 LC-PUFA (*i.e.*, EPA e DHA). Assim, 100 g de carne fresca dos borregos engordados neste trabalho forneceram 12,3 mg e 10,7 mg de n-3 LC-PUFA por 100g de carne, no caso do 1º ensaio com as dietas de médio e alto teor de amido, respetivamente, e 8,5 mg de n-3 LC-PUFA por 100g de carne, no caso do 2º ensaio, sem diferenças entre dietas (anexo 1). De acordo com o regulamento UE (2010) um alimento poderá ser rotulado como fonte de n-3 PUFA se contiver, pelo menos, 300 mg/100 g de 18:3n-3 ou 40 mg/100 g de EPA+DHA, valores que são claramente elevados para a carne produzida a partir de animais ruminantes mesmo quando as suas dietas são suplementadas com óleos ricos em 18:3n-3 (Jerónimo et al., 2009). Deste modo, apesar de termos utilizado uma mistura de óleos vegetais anteriormente referenciada como capaz de aumentar a deposição de 18:3n-3 na gordura IMF, os resultados mostram que a carne produzida pelos borregos em ambos os ensaios apenas contribuiu de forma modesta para a satisfação das necessidades de um humano adulto em AG de cadeia longa da série n-3 (no máximo 5,1 e 4,3% da DDR, respetivamente com as dietas com nível médio e alto de amido, no 1º ensaio, e 3,4% da DDR, em média no 2º ensaio).

Embora o AG DPA (ácido docosapentaenóico, 22:5n-3) não seja considerado no somatório de AG da série n-3 benéficos para a saúde humana (Byelashov et al., 2015; FAO, 2010), os resultados obtidos com modelos animais apontam para que o DPA possa apresentar benefícios intermédios aos observados com o EPA e o DHA (Gotoh et al., 2009). A carne de borrego apresenta frequentemente teores mais elevados de DPA do que EPA (Alvarenga et al., 2015), situação também observada no presente trabalho. Deste modo, se incluirmos o DPA no total de n-3 LC-PUFA a contribuição da ingestão de 100 g de carne para a satisfação das necessidades em n-3 LC-PUFA aumenta de forma substancial (em média,

+101 e +73%, respectivamente, no 1º e no 2º ensaio, correspondentes a 23,2 e 17,0 mg/100 g de carne, ou seja, 9,3 e 6,8% da DDR; ver Anexo 1).

Os resultados com culturas de células e modelos animais sugerem que a ingestão de CLA (c9,t11-18:2) apresenta um efeito benéfico para a saúde em humanos (Crumb, 2011). Embora a ingestão ótima de CLA de modo a obter benefícios para a saúde em humanos ainda não esteja estabelecida, a extrapolação dos resultados obtidos com modelos animais, aponta para a necessidade de ingerir 600 a 800 mg de CLA/d de modo a obter, respectivamente, efeitos anti-ateroscleróticos e anti-carcinogénicos (Siurana and Calsamiglia, 2016). Tendo em consideração esse valor indicativo, de um modo geral, a carne dos borregos, alimentados com as dietas utilizadas no presente trabalho, apenas teria uma contribuição mínima para a satisfação das necessidades em CLA (c9,t11-18:2; no máximo 1,2 e 0,8% do valor indicativo, correspondente a 7,2 e 4,7 mg/100 g de carne no caso do 1º ensaio com as dietas de médio e alto teor de amido, respectivamente, e no máximo 0,6% do valor indicativo correspondente a 3,5 mg/100 g de carne no 2º ensaio sem diferenças entre dietas) devido aos baixos teores observados na carne dos borregos em ambos os ensaios. Mesmo considerando que após a ingestão, nos tecidos humanos, cerca de 19% do t11-18:1 ingerido pode ser convertido por ação da SCD em c9,t11-18:2 (Turpeinen et al., 2002), a contribuição continuaria a ser bastante modesta (+42%, de um máximo de 1,2 e 0,8% para 1,7 e 1,1% do valor indicativo, no caso da carne obtida no 1º ensaio, com as dietas de médio e alto teor de amido, respectivamente, e +93%, de um máximo de 0,6 para 1,1% do valor indicativo, em média, no caso da carne obtida no 2º ensaio) devido aos baixos teores de t11-18:1 observados em ambos os ensaios.

Contudo, apesar da modesta contribuição para a satisfação das necessidades em AG bioativos considerados benéficos para a saúde humana (*i.e.*, c9,t11-18:2, t11-18:1 e n-3 LC-PUFA) é importante lembrar que a carne de animais ruminantes, nomeadamente a de borrego, pode ser uma fonte importante desses AG em populações com um elevado consumo deste tipo de carne e um baixo consumo de peixe (Welch et al., 2010). Melhorar o valor nutricional dos AG presentes nos produtos dos ruminantes pode contribuir para manter hábitos de consumo, reduzindo o risco associado à ingestão de AG considerados nefastos para a saúde humana (De Smet, 2012; De Smet and Vossen, 2016; Givens, 2005) e mantendo o consumo de um produtos reconhecidamente rico em proteínas de elevado valor biológicos e uma importante fonte de algumas vitaminas e minerais (Binnie et al., 2014; EFSA, 2012; Pereira and Vicente, 2013; Williams, 2007; Wyness et al., 2011), pelo que a nutrição animal apresenta um importante e crescente papel na produção de alimentos com uma composição em AG próxima do adequado em termos de saúde humana (Givens, 2015).

6.3 Efeitos das estratégias nutricionais no desempenho produtivo e nas características de qualidade das carcaças e da carne

O desenvolvimento de estratégias que permitam melhorar o valor dietético da fração lipídica dos produtos de origem animal, compatibilizando-o com as atuais recomendações nutricionais para humanos (Scollan et al., 2014; Shingfield et al., 2013), é considerado como fundamental e necessário à manutenção do consumo de produtos animais e, em particular, de carnes vermelhas (Pethick et al., 2010). Estas estratégias, contudo, podem ter consequências no desempenho produtivo e nas características de qualidade das carcaças e da carne produzida pelos animais, pelo que podem influenciar não só o rendimento dos produtores como os atributos de qualidade valorizados pelos consumidores sendo, por isso, importante que se faça a sua avaliação.

Os resultados dos dois ensaios realizados mostram que as estratégias nutricionais utilizadas não influenciaram de forma significativa ($P>0,05$) o desempenho produtivo dos animais, em termos de PV abate, PCQ e GMD, características que se assemelharam às de outros trabalhos realizados com a mesma raça em condições de produção equivalentes (Bessa et al., 2005; Santos-Silva et al., 2002b). Tendo em consideração os custos unitários das matérias-primas empregues na produção das dietas utilizadas nos dois ensaios, foi possível calcular o custo com a alimentação dos borregos e a margem bruta parcial (valor da carcaça – custo acumulado com alimentação) (Tabela 6.2). Os resultados apresentados na Tabela 6.2 mostram que as estratégias nutricionais utilizadas no presente trabalho resultaram ou tenderam a resultar num aumento do custo com a alimentação que, no entanto, não resultou

Tabela 6.2– Custo com a alimentação e margem bruta parcial obtida com os borregos sujeitos às dietas utilizadas nos dois ensaios.

| 1º ensaio | Dietas | | | | SEM | Valor de <i>P</i> | | |
|--------------------------|--------|------|------|------|-------|-------------------|-------|------|
| | MS | | HS | | | S | D | S×D |
| | MD | HD | MD | HD | | | | |
| Custo da alimentação (€) | | | | | | | | |
| Por dia | 0,53 | 0,48 | 0,54 | 0,47 | 0,031 | 0,96 | 0,08 | 0,82 |
| Por kg de GMD | 1,72 | 1,66 | 1,64 | 1,59 | 0,104 | 0,48 | 0,57 | 0,96 |
| Por engorda | 22,2 | 20,0 | 22,5 | 19,7 | 1,31 | 0,96 | 0,076 | 0,82 |
| Margem bruta parcial (€) | 48,0 | 47,3 | 44,9 | 41,7 | 2.80 | 0,14 | 0,50 | 0,65 |
| 2º ensaio | Dietas | | | | SEM | Contrastes | | |
| | C | B | V | BV | | C | B-V | BV |
| Custo da alimentação(€) | | | | | | | | |
| Por dia | 0,29 | 0,34 | 0,34 | 0,33 | 0,015 | 0,020 | 0,97 | 0,61 |
| Por kg de GMD | 1,48 | 1,53 | 1,47 | 1,46 | 0,065 | 0,97 | 0,54 | 0,65 |
| Por engorda | 14,3 | 16,7 | 16,7 | 16,2 | 0,73 | 0,020 | 0,97 | 0,61 |
| Margem bruta parcial (€) | 30,6 | 31,3 | 32,7 | 31,2 | 1,71 | 0,58 | 0,57 | 0,70 |

em diferenças significativas na margem bruta parcial em ambos os ensaios. O elevado custo das dietas no 1º ensaio resultou da necessidade de utilizar *corn gluten meal* como forma de garantir um fornecimento adequado de proteína com dietas com um teor elevado de amido. O custo da alimentação é um aspeto importante a considerar quando se procura adotar determinada estratégia nutricional com vista à melhoria do perfil de AG da carne uma vez que não será de esperar que os produtores de borregos em sistema intensivo estejam na disposição de a adotar se o seu custo for demasiado alto, se resultar em perdas no desempenho produtivo dos animais ou se a melhoria do perfil de AG não for valorizada pelos consumidores.

A estratégia nutricional utilizada no 1º ensaio não resultou em qualquer alteração significativa nas características de qualidade das carcaças avaliadas devidas ao nível ou ao tipo de amido da dieta. No que se refere ao 2º ensaio, os resultados apontam para uma maior proporção de músculo na sela+pá e para uma menor acumulação de gordura dissecável quando foi utilizada uma mistura de bentonite e vermiculite (dieta BV) como adsorvente dos lípidos adicionados à dieta. Os resultados obtidos não nos permitem esclarecer a razão pela qual a combinação das duas argilas possa ter alterado a composição do ganho de peso promovendo a deposição de proteína em detrimento da deposição de gordura, contudo este é um resultado interessante do ponto de vista zootécnico. Da pesquisa realizada apenas encontrámos resultados semelhantes nos trabalhos de Khadem et al. (2007)⁴ e de Lee et al. (2010)⁵ com bentonite não tendo sido encontradas quaisquer referências a efeitos semelhantes com vermiculite. A utilização de bentonite em dietas de ruminantes tem sido associada com um maior fluxo de azoto microbiano e de origem alimentar para o intestino (Ivan et al., 1992) devido ao efeito desfaunante (Wallace and Newbold, 1991). Contudo, não observámos qualquer efeito significativo das argilas nas contagens de protozoários ciliados do rúmen.

Os parâmetros da cor da carne em ambos os ensaios foram semelhantes a outros obtidos com borregos leves de raças autóctones (Bessa et al., 2005; Santos-Silva et al., 2002b). No que se refere à força de corte da carne os valores observados em ambos os ensaios foram mais altos, em particular no 2º ensaio, do que os referidos noutros trabalhos com borregos Merino Branco, criados em condições semelhantes (Bessa et al., 2005; Santos-Silva et al., 2002b). O facto de os animais terem sido transportados 2-3 dias antes do abate do ovel da ESAC-IPC (Coimbra) para o matadouro no UEISPSA-INIAV(Santarém) pode ter contribuído para o aumento dos valores da FC (Warner et al., 2010), principalmente nos animais do 2º

⁴ - Onde borregos alimentados com bentonite apresentaram uma maior área do músculo *longissimus* e uma menor espessura da gordura subcutânea e da gordura depositada na cauda comparativamente a uma dieta controlo, sem argilas.

⁵ - Onde novilhos alimentados com bentonite tenderam a diminuir a espessura da gordura subcutânea comparativamente a uma dieta controlo, sem argilas.

ensaio, que sendo mais jovens poderão ter sofrido mais com o stress da deslocação e com a mudança de instalações. De um modo geral, os valores da força de corte da carne apresentaram uma elevada variabilidade individual, independentemente dos tratamentos, com valores entre 2,3 e 8,7 kg (22,6 e 85,8 N, respetivamente), no 1º ensaio, e 4,6 e 9,7 kg, no 2º ensaio, sugerindo uma elevada variação na perceção de tenrura por parte do consumidor (Sullivan and Calkins, 2011) que poderá estar relacionado com a heterogeneidade dos animais, quer em termos de PV (inicial e final), quer dos GMD realizados (Archile-Contreras et al., 2010), principalmente no 1º ensaio. Para além disso, no 1º ensaio o aumento do nível de amido degradável no rúmen, por aumento da proporção de trigo no alimento composto induziu uma redução (-10,3 N ou -1,05 kg) na FC da carne, comparativamente às dietas com maior proporção de milho. Apesar de o trabalho de Jeremiah et al. (1998) sugerir uma melhoria da tenrura da carne de bovino com cevada comparativamente ao milho, noutros trabalhos não foi observada qualquer diferença significativa na FC da carne de animais sujeitos a dietas diferindo na degradabilidade ruminal do amido (Fiems et al., 1999; Sami et al., 2006). Embora as dietas não tenham tido qualquer efeito significativo sobre o desempenho produtivo dos animais ou a composição das carcaças, é possível que possam ter tido outros efeitos sobre o metabolismo do músculo que justifiquem as diferenças aqui encontradas. No entanto, não encontramos na literatura consultada qualquer informação que permita explicar a relação entre a FC da carne e a degradabilidade ruminal do amido em animais ruminantes. Contudo, este é um resultado que merece ser confirmado, nomeadamente com avaliações por painel de provadores, dada a amplitude do efeito observado (-10,3 N ou -1,05 kg, correspondente a -20,8%) e à importância da tenrura enquanto atributo de qualidade para o consumidor.

Por fim, é salientar que a magnitude do *shifttrans*-10 observado com as dietas utilizadas neste trabalho não se correlacionou com o desempenho produtivo dos animais nem com as características de qualidade das carcaças e da carne, ao contrário do que sucede nos bovinos de leite onde o *shift trans*-10 das vias de BH ruminal tem sido associado com o síndrome da depressão da gordura do leite (Bauman and Griinari, 2003).

CAPÍTULO 7

Conclusões Finais e Perspetivas Futuras

A utilização de dietas à base de alimentos concentrados suplementadas com óleos vegetais favoreceu a conversão dos PUFA da dieta em intermediários da BH associados ao *shifttrans*-10 pelo que não se apresentou como uma estratégia nutricional eficaz para aumentar o teor em CLA (*c9,t11*-18:2) e *t11*-18:1 na carne de borregos.

Os resultados aqui apresentados sugerem que as estratégias para mitigar o *shifttrans*-10 na produção intensiva de borregos suplementados com óleos vegetais ricos em PUFA deve ser dirigidas para a redução da ingestão de amido e não tanto para a utilização de fontes de amido de baixa degradabilidade ruminal. De facto, mesmo com os níveis mais baixos de amido observámos um pronunciado *shift trans*-10. Deste modo, se se pretende aumentar o teor em AG bioativos na carne de animais ruminantes sujeitos a dietas à base de alimentos concentrados, é importante que se desenvolvam estratégias nutricionais de engorda em sistema intensivo, nomeadamente, procurando fonte de energia alternativas que permitam reduzir o nível de amido nas dietas para ruminantes sem, contudo, comprometer o desempenho produtivo e as características de qualidade das carcaças e da carne. A utilização de subprodutos da agroindústria pode ser uma alternativa viável à utilização de cereais na alimentação dos animais, reduzindo a competição alimentar entre animais domésticos e o Homem. A utilização da polpa de citrinos desidratada, substituindo parcialmente os cereais no alimento concentrado, não afetou de forma negativa o desempenho produtivo dos animais nem as características de qualidade das carcaças e da carne. Para além disso, contribuiu para uma redução do *t10*-18:1 e do rácio *t10/t11*-18:1 na carne de borrego.

O aumento da degradabilidade do amido no rúmen, por aumento da proporção de trigo no alimento composto induziu uma redução de 20,8% (-10,3 N ou -1,05 kg) na FC da carne, comparativamente às dietas com maior proporção de milho. Dada a amplitude do efeito observado e à importância da tenrura enquanto atributo de qualidade para o consumidor este é um resultado que merece ser confirmado, nomeadamente com avaliações por painel de provadores.

A inclusão de argilas como adsorventes de óleos em dietas à base de alimentos concentrados no segundo ensaio não se mostrou capaz de proteger os PUFA da BH ruminal nem contribuiu para a prevenção do *shifttrans*-10 das vias de BH ruminal em borregos alimentados de forma intensiva.

No que se refere às características de qualidade da carcaça, os resultados apresentados sugerem que a utilização de uma mistura de bentonite e vermiculite alterou a composição do ganho de peso promovendo a deposição de proteína em detrimento da deposição de gordura dissecável.

Apesar da magnitude do *shifttrans*-10 observado neste trabalho, as estratégias nutricionais utilizadas permitiram obter GMD compatíveis com a raça e sistema de produção, sem que

tenham sido observados efeitos negativos sobre o desempenho produtivo dos animais, importante para a sustentabilidade da produção de borregos em modo de produção intensivo.

De igual modo, no presente trabalho não se verificou qualquer efeito negativo sobre as características de qualidade das carcaças e da carne dos borregos. Contudo, a ocorrência de um elevado *shifttrans*-10 limitou a melhoria do perfil em AG considerados benéficos para a saúde dos humanos (*c9,t11-18:2* e *t11-18:1*).

A prevenção do *shifttrans*-10 parece ser central na melhoria do perfil de AG da carne de animais ruminantes produzida em sistema intensivo. Os resultados relativos ao *shifttrans*-10 confirmam a elevada variabilidade individual observada por outros autores, o que sugere que a dieta não será o único fator que determina a alteração das vias de BH ruminal, pelo que este é um aspeto a ser melhor investigado. A variabilidade individual associada ao *shifttrans*-10 poderá estar relacionada com diferenças genéticas entre animais, com diferenças nos padrões de consumo de alimento, influenciando a ruminação e a capacidade tampão do rúmen. Que fatores estão envolvidos? Que diferenças na microbiota ruminal estão associadas? O nível de amido tem sido sugerido com um dos fatores da dieta envolvidos no *shifttrans*-10 pelo que a sua prevenção implicará a procura de estratégias de manejo alimentar e/ou fontes alternativas de energia para as dietas de engorda. Estas, contudo, podem ter consequências no rendimento dos produtores ou em características de qualidade dos produtos valorizadas pelo consumidor que importa avaliar. O desenvolvimento das técnicas de biologia molecular e a continuação da sua aplicação ao estudo da microbiota ruminal fornecerá, com certeza, novas informações relativas ao tipo e à função da comunidade microbiana envolvida no processo de BH ruminal.

BIBLIOGRAFIA

- Aldai, N., Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., McAllister, T.A., Walter, L.J., McKinnon, J.J., 2010a. Differences in the trans-18:1 profile of the backfat of feedlot steers fed wheat or corn based dried distillers' grains. *Anim. Feed Sci. Technol.* 157, 168–172. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.03.009
- Aldai, N., Dugan, M.E.R., Kramer, J.K.G., Martínez, A., López-Campos, O., Mantecón, A.R., Osoro, K., 2011. Length of concentrate finishing affects the fatty acid composition of grass-fed and genetically lean beef: an emphasis on trans-18:1 and conjugated linoleic acid profiles. *Animal* 5, 1643–52. doi:10.1017/S1751731111000607
- Aldai, N., Dugan, M.E.R., Kramer, J.K.G., Mir, P.S., McAllister, T.A., 2008. Nonionophore antibiotics do not affect the trans-18:1 and conjugated linoleic acid composition in beef adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 86, 3522–3532. doi:10.2527/jas.2008-0946
- Aldai, N., Dugan, M.E.R., Kramer, J.K.G., Robertson, W.M., Juárez, M., Aalhus, J.L., 2010b. Trans-18:1 and conjugated linoleic acid profiles after the inclusion of buffer, sodium sesquicarbonate, in the concentrate of finishing steers. *Meat Sci.* 84, 735–741. doi:10.1016/j.meatsci.2009.11.009
- Aldai, N., Dugan, M.E.R., Rolland, D.C., Kramer, J.K.G., 2009. Survey of the fatty acid composition of Canadian beef: Backfat and longissimus lumborum muscle. *Can. J. Anim. Sci.* 89, 315–329. doi:https://doi.org/10.4141/CJAS08126
- Aldai, N., Renobales, M., Barron, L.J.R., Kramer, J.K.G., 2013. What are the trans fatty acids issues in foods after discontinuation of industrially produced trans fats? Ruminant products, vegetable oils, and synthetic supplements. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 115, 1378–1401. doi:10.1002/ejlt.201300072
- Alexandratos, N., Bruinsma, J., 2012. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision (No. 12–3), ESA Working paper. Rome.
- Alfaia, C.P.M., Alves, S.P., Martins, S.I. V, Costa, A.S.H., Fontes, C.M.G.A., Lemos, J.P.C., Bessa, R.J.B., Prates, J.A.M., 2009. Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chem.* 114, 939–946. doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.041
- Alvarenga, T.I.R.C., Chen, Y., Furusho-Garcia, I.F., Perez, J.R.O., Hopkins, D.L., 2015. Manipulation of omega-3 PUFAs in lamb: phenotypic and genotypic views. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 189–204. doi:10.1111/1541-4337.12131
- Alves, S.P., Bessa, R.J.B., 2014. The trans-10,cis-15 18:2: a missing intermediate of trans-10 shifted rumen biohydrogenation pathway? *Lipids* 49, 527–541. doi:10.1007/s11745-014-3897-4
- Alves, S.P., Cabrita, A.R.J., Jerónimo, E., Bessa, R.J.B., Fonseca, A.J.M., 2011. Effect of ensiling and silage additives on fatty acid composition of ryegrass and corn experimental silages. *J. Anim. Sci.* 89, 2537–2545. doi:10.2527/jas.2010-3128
- Alves, S.P., Francisco, A., Costa, M., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2017. Biohydrogenation pattern in digestive contents and plasma of lambs fed increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils. *Anim. Feed Sci. Technol.* 225, 157–172. doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.01.018
- Alves, S.P., Santos-Silva, J., Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Bessa, R.J.B., 2013. Detailed dimethylacetal and fatty acid composition of rumen content from lambs fed lucerne or concentrate supplemented with soybean oil. *PLoS One* 8, e58386. doi:10.1371/journal.pone.0058386
- AMSA, 2012. Meat color measurement guidelines. Champaign, Illinois, USA.
- Archile-Contreras, A.C., Mandell, I.B., Purslow, P.P., 2010. Disparity of dietary effects on collagen characteristics and toughness between two beef muscles. *Meat Sci.* 86, 491–7. doi:10.1016/j.meatsci.2010.05.041
- Aurousseau, B., Bauchart, D., Calichon, E., Micol, D., Priolo, A., 2004. Effect of grass or concentrate feeding systems and rate of growth on triglyceride and phospholipid and their fatty acids in the

- M. longissimus thoracis of lambs. *Meat Sci.* 66, 531–41. doi:10.1016/S0309-1740(03)00156-6
- Avila-Stagno, J., Chaves, A. V, Graham, A.S., McAllister, T.A., 2013. Effects of replacing barley grain with wheat dry distillers' grains on growth performance, eating behavior, and subcutaneous fatty acid profiles of lambs. *Acta Agric. Scand. Sect. A - Anim. Sci.* 63, 93–100. doi:10.1080/09064702.2013.800906
- Bampidis, V.A., Robinson, P.H., 2006. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128, 175–217. doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.12.002
- Barendse, W., 2014. Should animal fats be back on the table? A critical review of the human health effects of animal fat. *Anim. Prod. Sci.* 54, 831–855. doi:dx.doi.org/10.1071/AN13536
- Bas, P., Berthelot, V., Pottier, E., Normand, J., 2007. Effect of level of linseed on fatty acid composition of muscles and adipose tissues of lambs with emphasis on trans fatty acids. *Meat Sci.* 77, 678–688. doi:10.1016/j.meatsci.2007.05.022
- Bauchart, D., 1993. Lipid absorption and transport in ruminants. *J. Dairy Sci.* 76, 3864–3881. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77728-0
- Bauchart, D., Legay-Carmier, F., Doreau, M., Gaillard, B., 1990. Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *Br. J. Nutr.* 63, 563–578. doi:10.1079/BJN19900143
- Bauchart, D., Roy, A., Lorenz, S., Chardigny, J.M., Ferlay, A., Gruffat, D., Sebedio, J.L., Chilliard, Y., Durand, D., 2007. Butters varying in trans 18:1 and cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid modify plasma lipoproteins in the hypercholesterolemic rabbit. *Lipids* 42, 123–133. doi:10.1007/s11745-006-3018-0
- Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A., Griinari, J.M., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants, in: *Proceedings of the American Society of Animal Science. Proceedings of the American Society of Animal Science*, pp. 1-NaN-15.
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 23, 203–27. doi:10.1146/annurev.nutr.23.011702.073408
- Bauman, D.E., Griinari, J.M., 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70, 15–29. doi:10.1007/0-306-46832-8_26
- Bauman, D.E., Perfield II, J.W., Veth, M.J. de, Lock, A.L., 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants, in: *Proc. Cornell Nutr. Conf.* pp. 175–189.
- Beam, T.M., Jenkins, T.C., Moate, P.J., Kohn, R.A., Palmquist, D.L., 2000. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci.* 83, 2564–2573. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)75149-6
- Bekhit, A.E.D.A., Hopkins, D.L., Fahri, F.T., Ponnampalam, E.N., 2013. Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: Sources, markers, and remedies. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12, 565–597. doi:10.1111/1541-4337.12027
- Belanche, A., Doreau, M., Edwards, J.E., Moorby, J.M., Pinloche, E., Newbold, C.J., 2012. Shifts in the rumen microbiota due to the type of carbohydrate and level of protein ingested by dairy cattle are associated with changes in rumen fermentation. *J. Nutr.* 112, 1–9. doi:10.3945/jn.112.159574.1
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V, Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 209–228. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.04.014
- Benchaar, C., Chouinard, P.Y., 2009. Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 3392–3396. doi:10.3168/jds.2009-2111
- Berthelot, V., Bas, P., Schmidely, P., 2010. Utilization of extruded linseed to modify fatty composition of intensively-reared lamb meat: Effect of associated cereals (wheat vs. corn) and linoleic acid content of the diet. *Meat Sci.* 84, 114–124. doi:10.1016/j.meatsci.2009.08.034
- Bessa, R.J.B., Alves, S.P., Jerónimo, E., Alfaia, C.M., Prates, J.A.M., Santos-Silva, J., 2007. Effect of lipid supplements on ruminal biohydrogenation intermediates and muscle fatty acids in lambs.

- Eur. J. Lipid Sci. Technol. 109, 868–878. doi:10.1002/ejlt.200600311
- Bessa, R.J.B., Alves, S.P., Santos-Silva, J., 2015. Constrains and potentials of the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 117, 1325–1344. doi:10.1002/ejlt.201400468
- Bessa, R.J.B., Lourenço, M., Portugal, P. V, Santos-Silva, J., 2008. Effects of previous diet and duration of soybean oil supplementation on light lambs carcass composition, meat quality and fatty acid composition. Meat Sci. 80, 1100–1105. doi:10.1016/j.meatsci.2008.05.001
- Bessa, R.J.B., Maia, M.R.G., Jerónimo, E., Belo, A.T., Cabrita, A.R.J., Dewhurst, R.J., Fonseca, A.J.M., 2009. Using microbial fatty acids to improve understanding of the contribution of solid associated bacteria to microbial mass in the rumen. Anim. Feed Sci. Technol. 150, 197–206. doi:10.1016/j.anifeedsci.2008.09.005
- Bessa, R.J.B., Portugal, P. V, Mendes, I.A., Santos-Silva, J., 2005. Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. Livest. Prod. Sci. 96, 185–194. doi:10.1016/j.livprodsci.2005.01.017
- Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., Ribeiro, J.M.R., Portugal, A. V, 2000. Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. Livest. Prod. Sci. 63, 201–211. doi:10.1016/S0301-6226(99)00117-7
- Biesalski, H.K., 2005. Meat as a component of a healthy diet - Are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? Meat Sci. 70, 509–524. doi:10.1016/j.meatsci.2004.07.017
- Binnie, M.A., Barlow, K., Johnson, V., Harrison, C., 2014. Red meats: time for a paradigm shift in dietary advice. Meat Sci. 98, 445–51. doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.024
- Bodas, R., Frutos, P., Giraldez, F.J., Hervas, G., Lopez, S., 2009. Effect of sodium bicarbonate supplementation on feed intake, digestibility, digesta kinetics, nitrogen balance and ruminal fermentation in young fattening lambs. Spanish J. Agric. Res. 7, 330–341.
- Boutoial, K., Ferrandini, E., Rovira, S., García, V., López, M.B., 2013. Effect of feeding goats with rosemary (*Rosmarinus officinalis* spp.) by-product on milk and cheese properties. Small Rumin. Res. 112, 147–153. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.12.002
- Bravo-Lamas, L., Barron, L.J.R., Kramer, J.K.G., Etaio, I., Aldai, N., 2016. Characterization of the fatty acid composition of lamb commercially available in northern Spain: Emphasis on the trans-18:1 and CLA content and profile. Meat Sci. 117, 108–116. doi:10.1016/j.meatsci.2016.02.043
- Bringe, A.N., Schultz, L.H., 1969. Effects of roughage type or added bentonite in maintaining fat test. J. Dairy Sci. 52, 465–471. doi:10.3168/jds.S0022-0302(69)86589-6
- Brogna, D.M.R., Nasri, S., Salem, H.B., Mele, M., Serra, A., Bella, M., Priolo, A., Makkar, H.P.S., Vasta, V., 2011. Effect of dietary saponins from *Quillaja saponaria* L. on fatty acid composition and cholesterol content in muscle *Longissimus dorsi* of lambs. Animal 5, 1124–1130. doi:10.1017/S1751731111000048
- Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S., Molle, G., Cabiddu, A., 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. Anim. Feed Sci. Technol. 174, 1–25. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.02.009
- Byelashov, O.A., Sinclair, A.J., Kaur, G., 2015. Dietary sources, current intakes, and nutritional role of omega-3 docosapentaenoic acid. Lipid Technol. 27, 79–82. doi:10.1002/lite.201500013
- Cabrita, A.R.J., Vale, J.M.P., Bessa, R.J.B., Dewhurst, R.J., Fonseca, A.J.M., 2009. Effects of dietary starch source and buffers on milk responses and rumen fatty acid biohydrogenation in dairy cows fed maize silage-based diets. Anim. Feed Sci. Technol. 152, 267–277. doi:10.1016/j.anifeedsci.2009.04.020
- Calnan, H., Jacob, R.H., Pethick, D.W., Gardner, G.E., 2016. Production factors influence fresh lamb *longissimus* colour more than muscle traits such as myoglobin concentration and pH. Meat Sci. 119, 41–50. doi:10.1016/j.meatsci.2016.04.009
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 90, 2580–95. doi:10.3168/jds.2006-644

- Carreño, D., Hervás, G., Toral, P.G., Belenguer, A., Frutos, P., 2015. Ability of different types and doses of tannin extracts to modulate in vitro ruminal biohydrogenation in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 202, 42–51. doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.02.003
- Chaves, A. V., Dugan, M.E.R., Stanford, K., Gibson, L.L., Bystrom, J.M., McAllister, T.A., Van Herk, F., Benchaar, C., 2011. A dose-response of cinnamaldehyde supplementation on intake, ruminal fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livest. Sci.* 141, 213–220. doi:10.1016/j.livsci.2011.06.006
- Chaves, A. V., Stanford, K., Dugan, M.E.R., Gibson, L.L., McAllister, T.A., Van Herk, F., Benchaar, C., 2008. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livest. Sci.* 117, 215–224. doi:10.1016/j.livsci.2007.12.013
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M., 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, 828–855. doi:10.1002/ejlt.200700080
- Chow, T.T., Fievez, V., Moloney, A.P., Raes, K., Demeyer, D., De Smet, S., 2004. Effect of fish oil on in vitro rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117, 1–12. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.08.008
- Clegg, K.M., 1956. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. *J. Sci. Food Agric.* 7, 40–44. doi:10.1002/jsfa.2740070108
- Clinquart, A., Brundseaux, C., Dufrasne, I., Istasse, L., 1995. Utilisation des matières grasses chez les bovins à l'engraissement. *Prod. Anim.* 8, 29–42.
- Combe, N., Clouet, P., Chardigny, J.M., Lagarde, M., Léger, C.L., 2007. Trans fatty acids, conjugated linoleic acids, and cardiovascular diseases. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, 945–953. doi:10.1002/ejlt.200600288
- Cook, H.W., McMaster, C.R., 2002. Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes., in: Vance, D.E., Vance, J.F. (Eds.), *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Elsevier Science B. V., pp. 181–204. doi:10.1016/S0167-7306(02)36009-5
- Crumb, D.J., 2011. Conjugated linoleic acid (CLA) - An overview. *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* 4, 12–18.
- Cuvelier, C., Cabaraux, J.F., Dufrasne, I., Hornick, J.L., Istasse, L., 2004. Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Med. Vet.* 148, 133–140.
- Daley, C.A., Abbott, A., Doyle, P.S., Larson, S., 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutr. J.* 9, 1–12. doi:https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-10
- Daniel, Z.C.T.R., Wynn, R.J., Salter, A.M., Buttery, P.J., 2004. Differing effects of forage and concentrate diets on the oleic acid and conjugated linoleic acid content of sheep tissues: The role of stearoyl-CoA desaturase. *J. Anim. Sci.* 82, 747–758.
- De Smet, S., 2012. Meat, poultry, and fish composition: Strategies for optimizing human intake of essential nutrients. *Anim. Front.* 2, 10–16. doi:10.2527/af.2012-0057
- De Smet, S., Raes, K., Demeyer, D., 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Anim. Res.* 53, 81–98. doi:10.1051/animres
- De Smet, S., Vossen, E., 2016. Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Sci.* 120, 145–156. doi:10.1016/j.meatsci.2016.04.008
- Demeyer, D., Doreau, M., 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.* 58, 593–607.
- Denich, T.J., Beaudette, L.A., Lee, H., Trevors, J.T., 2003. Effect of selected environmental and physico-chemical factors on bacterial cytoplasmic membranes, *Journal of Microbiological Methods*. doi:10.1016/S0167-7012(02)00155-0
- Devillard, E., McIntosh, F.M., Newbold, C.J., Wallace, R.J., 2006. Rumen ciliate protozoa contain high concentrations of conjugated linoleic acids and vaccenic acid, yet do not hydrogenate linoleic

- acid or desaturate stearic acid. *Br. J. Nutr.* 96, 697–704. doi:10.1079/BJN20061884
- Dewhurst, R.J., Davies, D.R., Merry, R.J., 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85, 1–21. doi:10.1016/S0377-8401(00)00139-5
- Dewhurst, R.J., Shingfield, K.J., Lee, M.R.F., Scollan, N.D., 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 168–206. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.04.016
- Dijkstra, J., Ellis, J.L., Kebreab, E., Strathe, A.B., López, S., France, J., Bannink, A., 2012. Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172, 22–33. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.12.005
- Dohme, F., Fievez, V., Raes, K., Demeyer, D., 2003. Increasing levels of two different fish oils lower ruminal biohydrogenation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid in vitro. *Anim. Res.* 52, 309–320. doi:10.1051/animres
- Doreau, M., Bauchart, D., Chilliard, Y., 2011. Enhancing fatty acid composition of milk and meat through animal feeding. *Anim. Prod. Sci.* 51, 19–29. doi:10.1071/AN10043
- Doreau, M., Chilliard, Y., 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.* 78, s15–s35. doi:10.1079/BJN19970132
- Doreau, M., Ferlay, A., 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 45, 379–396. doi:https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90039-6
- Doreau, M., Fievez, V., Troegeler-Meynadier, A., Glasser, F., 2012. Métabolisme ruminal et digestion des acides gras longs chez le ruminant: le point des connaissances récentes. *Prod. Anim.* 25, 361–373.
- Doreau, M., Troegeler-Meynadier, A., Fievez, V., Ferlay, A., 2016. Ruminal metabolism of fatty acids: modulation of polyunsaturated, conjugated, and trans fatty acids in meat and milk, in: Watson, R.R., Demeester, M. (Eds.), *Handbook of Lipids in Human Function: Fatty Acids*. AOCS Press, San Diego, USA, pp. 521–542.
- Drackley, J.K., 2005. Interorgan lipid and fatty acid metabolism in growing ruminants, in: *Biology of Growing Animals*, Biology of Growing Animals. Elsevier, pp. 323–350. doi:10.1016/S1877-1823(09)70020-7
- Drackley, J.K., 2000. Lipid metabolism, in: D'Mello, J.P.F. (Ed.), *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CABI Publishing, pp. 97–119.
- Duckett, S.K., Gillis, M.H., 2010. Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* 88, 2684–2691. doi:10.2527/jas.2009-2375
- Dugan, M.E.R., Aldai, N., Aalhus, J.L., Rolland, D.C., Kramer, K.G., 2011. Review: Trans-forming beef to provide healthier fatty acid profiles. *Can. J. Anim. Sci.* 91, 545–556. doi:10.4141/CJAS2011-044
- Dugan, M.E.R., Aldai, N., Kramer, J.K.G., Gibb, D.J., Juárez, M., McAllister, T.A., 2010. Feeding wheat dried distillers grains with solubles improves beef trans and conjugated linoleic acid profiles. *J. Anim. Sci.* 88, 1842–1847. doi:10.2527/jas.2009-2575
- Durmic, Z., McSweeney, C.S., Kemp, G.W., Hutton, P., Wallace, R.J., Vercoe, P.E., 2008. Australian plants with potential to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 271–284. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.05.052
- EFSA, 2015. Scientific opinion on dietary reference values for cobalamin (vitamin B12). *Eur. Food Saf. Auth. J.* 12, 64. doi:10.2903/j.efsa.2014.3759
- EFSA, 2013. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for energy. *Eur. Food Saf. Auth. J.* 11, 112. doi:10.2903/j.efsa.2013.3005.
- EFSA, 2012. Scientific opinion on dietary reference values for protein. *Eur. Food Saf. Auth. J.* 10, 66. doi:10.2903/j.efsa.2012.2557
- EFSA, 2010. Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty, trans fatty acids, and cholesterol. *Eur. Food*

- Saf. Auth. J. 8, 1–107. doi:10.2903/j.efsa.2010.1461.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D., 2005. Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Sci.* 69, 233–242. doi:10.1016/j.meatsci.2004.07.002
- Enser, M., 1999. Muscle lipids and meat quality. *Proc. Nutr. Soc.* 243–246.
- Fahy, E., 2005. A comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid Res.* 46, 839–862. doi:10.1194/jlr.E400004-JLR200
- Falowo, A.B., Fayemi, P.O., Muchenje, V., 2014. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Res. Int.* 64, 171–181. doi:10.1016/j.foodres.2014.06.022
- FAO, 2010. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. FAO, Food and Nutrition Paper, 91. Rome, Italy.
- Faucitano, L., Chouinard, P.Y., Fortin, J., Mandell, I.B., Lafrenière, C., Girard, C.L., Berthiaume, R., 2008. Comparison of alternative beef production systems based on forage finishing or grain-forage diets with or without growth promotants: 2. Meat quality, fatty acid composition, and overall palatability. *J. Anim. Sci.* 86, 1678–1689. doi:10.2527/jas.2007-0756
- Fellner, V., Sauer, F.D., Kramer, J.K., 1997. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenters. *J. Dairy Sci.* 80, 921–8. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76015-6
- Ferlay, A., Chabrot, J., Elmeddah, Y., Doreau, M., 1993. Ruminal lipid balance and intestinal digestion by dairy cows fed calcium salts of rapeseed oil. *J. Anim. Sci.* 71, 2237–2245.
- Fernando, S.C., Purvis, H.T., Najar, F.Z., Sukharnikov, L.O., Krehbiel, C.R., Nagaraja, T.G., Roe, B.A., De Silva, U., 2010. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 7482–7490. doi:10.1128/AEM.00388-10
- Ferret, A., Calsamiglia, S., Bach, A., Devant, M., 2008. FEDNA - Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal [WWW Document]. Necesidades Nutr. para rumiantes en cebo normas FEDNA. URL http://www1.etsia.upm.es/fedna/NORMAS_PENSOS/NORMAS_RUMIANTES_2008.pdf
- Fiems, L.O., De Campeneere, S., Cottyn, B.G., Vanacker, J.M., D'Heer, B.G.J., Boucque, C.H. V., 1999. Effect of amount and degradability of dietary starch on animal performance and meat quality in beef bulls. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 82, 217–226. doi:10.1046/j.1439-0396.1999.00235.x
- Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J.M., Stefanov, I., Vlaeminck, B., 2012. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. *Anim. Feed Sci. Technol.* 172, 51–65. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.12.008
- Fievez, V., Vlaeminck, B., Jenkins, T.C., Enjalbert, F., Doreau, M., 2007. Assessing rumen biohydrogenation and its manipulation in vivo, in vitro and in situ. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, 740–756. doi:10.1002/ejlt.200700033
- Filip, S., Vidrih, R., 2012. Trans fatty acids and human health, in: Gaze, D. (Ed.), *The Cardiovascular System - Physiology, Diagnostics and Clinical Implications* Edited. InTech, p. 478.
- France, J., Dijkstra, J., 2005. Volatile fatty acid production, in: Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J. (Eds.), *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. CABI Publishing, Oxfordshire, UK, pp. 157–176.
- Francisco, A., Alves, S.P., Portugal, P. V., Pires, V.M.R., Dentinho, M.T., Alfaia, C.P.M., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2016. Effect of feeding lambs with a tanniferous shrub (rockrose) and a vegetable oil blend on fatty acid composition of meat lipids. *Animal* 10, 2061–2073. doi:10.1017/S1751731116001129
- French, E.A., Bertics, S.J., Armentano, L.E., 2012. Rumen and milk odd- and branched-chain fatty acid proportions are minimally influenced by ruminal volatile fatty acid infusions. *J. Dairy Sci.* 95, 2015–26. doi:10.3168/jds.2011-4827
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J.-F., Culioli, J., 2002. Valeur diététique et qualités sensorielles

- des viandes de ruminants . Incidence de l'alimentation des animaux. INRA Prod. Anim. 15, 37–52.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J., Culioli, J., 2001. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscles in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reprod. Nutr. Dev.* 41, 1–26.
- Gebauer, S.K., Chardigny, J.M., Jakobsen, M.U., Lamarche, B., Lock, A.L., Proctor, S.D., Baer, D.J., 2011. Effects of ruminant trans fatty acids on cardiovascular disease and cancer: A comprehensive review of epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *Adv. Nutr.* 2, 332–354. doi:10.3945/an.111.000521.332
- Gerson, T., John, A., King, A., 1985. The effects of dietary starch and fibre on the in vitro rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta. *J. Agric. Sci.* 105, 27–30. doi:https://doi.org/10.1017/S0021859600055659
- Gerson, T., John, A., Sinclair, B.R., 1983. The effect of dietary N on in vitro lipolysis and fatty acid hydrogenation in rumen digesta from sheep fed diets high in starch. *J. Agric. Sci.* 101, 97–101. doi:https://doi.org/10.1017/S0021859600036406
- Gill, R.K., Vanoverbeke, D.L., Depenbusch, B., Drouillard, J.S., Dicostanzo, A., 2008. Impact of beef cattle diets containing corn or sorghum distillers grains on beef color, fatty acid profiles, and sensory attributes. *J. Anim. Sci.* 86, 923–935. doi:10.2527/jas.2007-0244
- Gillis, M.H., Duckett, S.K., Sackmann, J.R., 2007. Effects of supplemental rumen-protected conjugated linoleic acid or corn oil on lipid content and palatability in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 1504–1510. doi:10.2527/jas.2006-581
- Gillis, M.H., Duckett, S.K., Sackmann, J.R., Realini, C.E., Keisler, D.H., Pringle, T.D., 2004. Effects of supplemental rumen-protected conjugated linoleic acid or linoleic acid on feedlot performance, carcass quality, and leptin concentrations in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 82, 851–859.
- Gimeno, A., Alami, A., Al, Abecia, L., Vega, A., Fondevila, M., Castrillo, C., 2015. Effect of type (barley vs. maize) and processing (grinding vs. dry rolling) of cereal on ruminal fermentation and microbiota of beef calves during the early fattening period. *Anim. Feed Sci. Technol.* 199, 113–126. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.11.008
- Givens, D.I., 2015. Manipulation of lipids in animal-derived foods: Can it contribute to public health nutrition? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117, 1306–1316. doi:10.1002/ejlt.201400427
- Givens, D.I., 2005. The role of animal nutrition in improving the nutritive value of animal-derived foods in relation to chronic disease. *Proc. Nutr. Soc.* 64, 395–402. doi:10.1079/PNS2005448
- Glasser, F., Doreau, M., Maxin, G., Baumont, R., 2013. Fat and fatty acid content and composition of forages: A meta-analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 185, 19–34. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.06.010
- Glasser, F., Schmidely, P., Sauvant, D., Doreau, M., 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 2. C18 fatty acids. *Animal* 2–5, 691–704. doi:10.1017/S1751731108002036
- Gondret, F., Hocquette, J.F., 2006. La teneur en lipides de la viande: une balance métabolique complexe. *Prod. Anim.* 19, 327–338.
- Gotoh, N., Nagao, K., Onoda, S., Shirouchi, B., Furuya, K., Nagai, T., Mizobe, H., Ichioka, K., Watanabe, H., Yanagita, T., Waga, S., 2009. Effects of three different highly purified n-3 series highly unsaturated fatty acids on lipid metabolism in C57BL/KsJ- db/db mice. *J. Agric. Food Chem.* 57, 11047–11054. doi:10.1021/jf9026553
- Griinari, J.M., Bauman, D.E., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants, in: *Advances in Conjugated Linoleic Acid*. pp. 180–199.
- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V. V., Bauman, D.E., 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ -desaturase. *J. Nutr.* 130, 2285–2291.
- Gudla, P., AbuGhazaleh, A.A., Ishlak, A., Jones, K., 2012. The effect of level of forage and oil supplement on biohydrogenation intermediates and bacteria in continuous cultures. *Anim. Feed Sci. Technol.* 171, 108–116. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.10.004

- Hall, M.B., Pell, A.N., Chase, L.E., 1998. Characteristics of neutral detergent-soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 70, 23–39. doi:10.1016/S0377-8401(97)00068-0
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Vanhatalo, A., Toivonen, V., Heikkilä, T., Lee, M.R.F., Shingfield, K.J., 2014. Effect of replacing grass silage with red clover silage on nutrient digestion, nitrogen metabolism, and milk fat composition in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *J. Dairy Sci.* 97, 3761–3776. doi:10.3168/jds.2013-7358
- Harfoot, C.G., Hazlewood, G.P., 1997. Lipid metabolism in the rumen, in: Hobson, P., Stewart, C. (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. Chapman & Hall, pp. 140–197.
- He, M.L., McAllister, T.A., Hernandez-Calva, L.M., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., McKinnon, J.J., 2014. Effect of dietary inclusion of triticale dried distillers' grain and oilseeds on quality and fatty acid profile of meat from feedlot steers. *Meat Sci.* 97, 76–82. doi:10.1016/j.meatsci.2014.01.008
- He, M.L., Sultana, H., Oba, M., Kastelic, J.P., Dugan, M.E.R., McKinnon, J.J., McAllister, T.A., 2012. Triticale dried distillers' grain increases alpha-linolenic acid in subcutaneous fat of beef cattle fed oilseeds. *Lipids* 47, 1209–1220. doi:10.1007/s11745-012-3720-z
- Heipieper, H.J., Diefenbach, R., Keweloh, H., 1992. Conversion of cis unsaturated fatty acids to trans, a possible mechanism for the protection of phenol-degrading *Pseudomonas putida* P8 from substrate toxicity. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1847–1852.
- Hocquette, J.-F., Chatellier, V., 2011. Prospects for the European beef sector over the next 30 years. *Anim. Front.* 1, 20–28. doi:10.2527/af.2011-0014
- Hocquette, J.F., Bauchart, D., 1999. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. *Reprod. Nutr. Dev.* 39, 27–48.
- Hocquette, J.F., Gondret, F., Baéza, E., Médale, F., Jurie, C., Pethick, D.W., 2010. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal* 4, 303–19. doi:10.1017/S1751731109991091
- Hocquette, J.F., Jurie, C., Bonnet, M., Pethick, D.W., 2005a. Bovine intramuscular adipose tissue has a higher potential for fatty acid synthesis from glucose than subcutaneous adipose tissue., in: *Proceedings of the 56th European Association of Animal Production* p248 (Www.eaap.org).
- Hocquette, J.F., Richardson, R.I., Prache, S., Medale, F., Duffy, G., Scollan, N.D., 2005b. The future trends for research on quality and safety of animal products. *Ital. J. Anim. Sci.* 4, 49–72. doi:http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2005.3s.49
- Hocquette, J.F., Tesserand, S., Cassar-Malek, I., Chilliard, Y., Ortigues-Marty, I., 2007. Responses to nutrients in farm animals: implications for production and quality. *Animal* 1, 1297–313. doi:10.1017/S1751731107000602
- Hodgson, J.M., Wahlqvist, M.L., Boxall, J.A., Balazs, N.D., 1996. Platelet trans fatty acids in relation to angiographically assessed coronary artery disease. *Atherosclerosis* 120, 147–154. doi:10.1016/0021-9150(95)05696-3
- Huang, Y., Schoonmaker, J.P., Oren, S.L., Trenkle, A., Beitz, D.C., 2009. Calcium salts of CLA improve availability of dietary CLA. *Livest. Sci.* 122, 1–7. doi:https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.07.010
- Hudson, J.A., Cai, Y., Corner, R.J., Morvan, B., Joblin, K.N., 2000. Identification and enumeration of oleic acid and linoleic acid hydrating bacteria in the rumen of sheep and cows. *J. Appl. Microbiol.* 88, 286–292. doi:10.1046/j.1365-2672.2000.00968.x
- Hudson, J.A., Mackenzie, C.A.M., Joblin, K.N., 1996a. Hydration of oleic acid by a *Selenomonas* strain from the ovine rumen. *Lett. Appl. Microbiol.* 23, 133–135. doi:doi/10.1111/j.1472-765X.1996.tb00048.x
- Hudson, J.A., Mackenzie, C.A.M., Joblin, K.N., 1996b. Factors affecting the formation of 10-hydroxystearic acid from oleic acid by a ruminal strain of *Enterococcus faecalis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45, 404–407. doi:https://doi.org/10.1007/s002530050703
- Hudson, J.A., Morvan, B., Joblin, K.N., 1998. Hydration of linoleic acid by bacteria isolated from ruminants. *FEMS Microbiol. Lett.* 169, 277–82. doi:10.1111/j.1574-6968.1998.tb13329.x

- Huntington, G.B., 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75, 852–867. doi:doi:10.2527/1997.753852x
- INSA, 2015. Tabela da Composição dos Alimentos [WWW Document]. URL www.insa.pt (accessed 9.4.16).
- ISO 5983, 1997. Animal feeding stuffs - Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content - Kjeldhal method.
- ISO 5984, 2002. Animal Feeding Stuffs - Determination of crude ash.
- ISO 6496, 1999. Animal Feeding Stuffs - Determination of moisture and other volatile matter content.
- Ivan, M., Dayrell, M.D., Mahadevan, S., Hidirolou, M., 1992. Effects of bentonite on wool growth and nitrogen metabolism in fauna-free and faunated sheep. *J. Anim. Sci.* 70, 3194–3202. doi:1992.70103194x
- Jayanegara, A., Kreuzer, M., Leiber, F., 2012. Ruminal disappearance of polyunsaturated fatty acids and appearance of biohydrogenation products when incubating linseed oil with alpine forage plant species in vitro. *Livest. Sci.* 147, 104–112. doi:10.1016/j.livsci.2012.04.009
- Jenkins, T.C., 2010. Technical note: common analytical errors yielding inaccurate results during analysis of fatty acids in feed and digesta samples. *J. Dairy Sci.* 93, 1170–4. doi:10.3168/jds.2009-2509
- Jenkins, T.C., 1994. Regulation of lipid metabolism in the rumen. *J. Nutr.* 124, 1372S–1376S.
- Jenkins, T.C., 1993. Lipid Metabolism in the Rumen. *J. Dairy Sci.* 76, 3851–3863. doi:doi:10.2527/1997.753852x
- Jenkins, T.C., AbuGhazaleh, A.A., Freeman, S., Thies, E.J., 2006. The production of 10-hydroxystearic and 10-ketostearic acids is an alternative route of oleic acid transformation by the ruminal microbiota in cattle. *J. Nutr.* 136, 926–931. doi:136/4/926 [pii]
- Jenkins, T.C., Bridges, W.C., 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, 778–789. doi:10.1002/ejlt.200700022
- Jenkins, T.C., Fellner, V., McGuffey, R.K., 2003. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. *J. Dairy Sci.* 86, 324–30. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73609-1
- Jenkins, T.C., Klein, C.M., Lee, Y.J., 2009. New insights on the pathways of lipid biohydrogenation in the rumen with possible implications on animal performance, in: *Proceedings of the 24th Annual Southwest Nutrition and Management Conference*. Tempe, Arizona, pp. 90–105.
- Jenkins, T.C., Palmquist, D.L., 1984. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *J. Dairy Sci.* 67, 978–986. doi:10.3168/jds.S0022-0302(84)81396-X
- Jenkins, T.C., Palmquist, D.L., 1982. Effect of added fat and calcium on in vitro formation of insoluble fatty acid soaps and cell wall digestibility. *J. Anim. Sci.* 55, 957–963. doi:doi:10.2527/jas1982.554957x
- Jenkins, T.C., Wallace, R.J., 2008. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86, 397–412. doi:10.2527/jas.2007-0588
- Jeremiah, L.E., Beauchemin, K.A., Jones, S.D.M., Gibson, L.L., Rode, L.M., 1998. The influence of dietary cereal grain source and feed enzymes on the cooking properties and palatability attributes of beef. *Can. J. Anim. Sci.* 78, 271–275. doi:10.4141/a97-046
- Jerónimo, E., Alfaia, C.M.M., Alves, S.P., Dentinho, M.T.P., Prates, J.A.M., Vasta, V., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2012. Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer* L. in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat Sci.* 92, 841–847. doi:10.1016/j.meatsci.2012.07.011
- Jerónimo, E., Alves, S.P., Alfaia, C.M., Prates, J.M., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2011. Biohydrogenation intermediates are differentially deposited between polar and neutral intramuscular lipids of lambs. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 924–934. doi:10.1002/ejlt.201000398

- Jerónimo, E., Alves, S.P., Dentinho, M.T.P., Martins, S. V., Prates, J.A.M., Vasta, V., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2010a. Effect of grape seed extract, *Cistus ladanifer* L., and Vegetable oil supplementation on fatty acid composition of abomasal digesta and intramuscular fat of lambs. *J. Agric. Food Chem.* 58, 10710–10721. doi:10.1021/jf1021626
- Jerónimo, E., Alves, S.P., Martins, S. V., Prates, J.A.M., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., 2010b. Effect of sodium bentonite and vegetable oil blend supplementation on growth, carcass quality and intramuscular fatty acid composition of lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158, 136–145. doi:10.1016/j.anifeeds.2010.04.010
- Jerónimo, E., Alves, S.P., Prates, J.A.M., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2009. Effect of dietary replacement of sunflower oil with linseed oil on intramuscular fatty acids of lamb meat. *Meat Sci.* 83, 499–505. doi:10.1016/j.meatsci.2009.06.033
- Jouany, J.-P. (Ed.), 1991. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. INRA Editions, Paris.
- Juárez, M., Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Aldai, N., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., 2010. Dietary vitamin E inhibits the trans 10-18:1 shift in beef backfat. *Can. J. Anim. Sci.* 90, 9–12. doi:10.4141/CJAS09088
- Juárez, M., Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Aldai, N., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., 2011. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Sci.* 88, 434–440. doi:10.1016/j.meatsci.2011.01.023
- Jurjanz, S., Monteils, V., Juaneda, P., Laurent, F., 2004. Variations of trans octadecenoic acid in milk fat induced by feeding different starch-based diets to cows. *Lipids* 37, 19–24. doi:10.1007/s11745-004-1196-4
- Kalscheur, K.F., Teter, B.B., Piperova, L.S., Erdman, R.A., 1997. Effect of dietary forage concentration and buffer addition production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 2104–2114. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76156-3
- Kaneda, T., 1991. Iso-and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.* 55, 288–302.
- Kemp, P., Dawson, R.M.C., 1968. Isomerisation of linolenic acid by rumen microorganism. *Biochem. J.* 109, 477–478.
- Kemp, P., Lander, D.J., 1984. Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130, 527–533. doi:http://dx.doi.org/10.1099/00221287-130-3-527
- Kepler, C.R., Hirons, K.P., Tove, S.B., 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by intermediates of linoleic and products of the biohydrogenation acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 241, 1350–1354.
- Keweloh, H., Heipieper, H.J., 1996. Trans unsaturated fatty acids in bacteria. *Lipids* 31, 129–137. doi:10.1007/BF02522611
- Khadem, A.A., Soofizadeh, M., Afzalzadeh, A., 2007. Productivity, blood metabolites and carcass characteristics of fattening zandi lambs fed sodium bentonite supplemented total mixed rations. *Pakistan J. Biol. Sci.* 10, 3613–3619. doi:10.3923/pjbs.2007.3613.3619
- Khafipour, E., Li, S., Plaizier, J.C., Krause, D.O., 2009. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7115–7124. doi:10.1128/AEM.00739-09
- Khiaosa-Ard, R., Bryner, S.F., Scheeder, M.R.L., Wettstein, H.R., Leiber, F., Kreuzer, M., Soliva, C.R., 2009. Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal α -linolenic acid biohydrogenation by condensed tannins. *J. Dairy Sci.* 92, 177–188. doi:10.3168/jds.2008-1117
- Kim, E.J., Huws, S.A., Lee, M.R.F., Scollan, N.D., 2009. Dietary transformation of lipid in the rumen microbial ecosystem. *Asian-Australian J. Anim. Sci.* 22, 1341–1350. doi:10.5713/ajas.2009.r.11
- Kim, E.J., Sanderson, R., Dhanoa, M.S., Dewhurst, R.J., 2005. Fatty acid profiles associated with microbial colonization of freshly ingested grass and rumen biohydrogenation. *J. Dairy Sci.* 88, 3220–3230. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)73005-8
- Kramer, J.K.G., Cruz-Hernandez, C., Deng, Z., Zhou, J., Jahreis, G., Dugan, M.E.R., 2004. Analysis of

- conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 1137S–1145S.
- Kronberg, S.L., Scholljegerdes, E.J., Murphy, E.J., Ward, R.E., Maddock, T.D., Schauer, C.S., 2012. Treatment of flaxseed to reduce biohydrogenation of α -linolenic acid by ruminal microbes in sheep and cattle, and increase n-3 fatty acid concentrations in red meat. *J. Anim. Sci.* 90, 4618–4624. doi:10.2527/jas.2011-4774
- Ladeira, M.M., Santarosa, L.C., Chizzotti, M.L., Ramos, E.M., Neto, O.R.M., Oliveira, D.M., Carvalho, J.R.R., Lopes, L.S., Ribeiro, J.S., 2014. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. *Meat Sci.* 96, 597–605. doi:10.1016/j.meatsci.2013.04.062
- Lalot, G.P., Bizelis, I., Rogdakis, E., 2010. Comparative approach of the de novo fatty acid synthesis (lipogenesis) between ruminant and non ruminant mammalian species: from biochemical level to the main regulatory lipogenic genes. *Curr. Genomics* 11, 168–183. doi:10.2174/138920210791110960
- Lanza, M., 2015. Fatty acid metabolism in lambs fed citrus pulp. *J. Anim. Sci.* 93, 3179–3188. doi:10.2527/jas2014-8708
- Lascano, G.J., Alende, M., Koch, L.E., Jenkins, T.C., 2016. Changes in fermentation and biohydrogenation intermediates in continuous cultures fed low and high levels of fat with increasing rates of starch degradability. *J. Dairy Sci.* 99, 6334–6341. doi:10.3168/jds.2016-11032
- Lawrence, G.D., 2013. Dietary fats and health: dietary recommendations in the context of scientific evidence. *Adv. Nutr.* 4, 294–302. doi:10.3945/an.113.003657
- Lebret, B., Picard, B., 2015. Les principales composantes de la qualité des carcasses et des viandes dans les différentes espèces animales. *Prod. Anim.* 28, 93–98.
- Lechartier, C., Peyraud, J.-L., 2011. The effects of starch and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed forage proportion. *J. Dairy Sci.* 94, 2440–2454. doi:10.3168/jds.2009-2349
- Lee, M.R.F., 2014. Forage polyphenol oxidase and ruminant livestock nutrition. *Front. Plant Sci.* 5, 694. doi:10.3389/fpls.2014.00694
- Lee, M.R.F., Parfitt, L.J., Scollan, N.D., Minchin, F.R., 2007. Lipolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities in the presence and absence of rumen fluid. *J. Sci. Food Agric.* 87, 1308–1314. doi:10.1002/jsfa.2849
- Lee, M.R.F., Tweed, J.K.S., Cookson, A., Sullivan, M.L., 2010. Immunogold labelling to localize polyphenol oxidase (PPO) during wilting of red clover leaf tissue and the effect of removing cellular matrices on PPO protection of glycerol-based lipid in the rumen. *J. Sci. Food Agric.* 90, 503–510. doi:10.1002/jsfa.3848
- Lee, M.R.F., Winters, A.L., Scollan, N.D., Dewhurst, R.J., Theodorou, M.K., Minchin, F.R., 2004. Plant-mediated lipolysis and proteolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1639–1645. doi:10.1002/jsfa.1854
- Lee, S., Kim, Y., Kwak, W., 2010. Effects of dietary addition of bentonite on manure gas emission, health, production, and meat characteristics of hanwoo (*Bos taurus coreanae*) steers. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 23, 1594–1600. doi:10.5713/ajas.2010.10005
- Li, Y., Liu, S., 2012. Reducing lipid peroxidation for improving colour stability of beef and lamb: On-farm considerations. *J. Sci. Food Agric.* 92, 719–729. doi:10.1002/jsfa.4715
- Lim, J.-N., Oh, J.-J., Wang, T., Lee, J.-S., Kim, S.-H., Kim, Y.-J., Lee, H.-G., 2014. Trans-11 18:1 vaccenic acid (TVA) has a direct anti-carcinogenic effect on MCF-7 human mammary adenocarcinoma cells. *Nutrients* 6, 627–636. doi:10.3390/nu6020627
- Lim, K.H.C., Riddell, L.J., Nowson, C.A., Booth, A.O., Szymlek-Gay, E.A., 2013. Iron and zinc nutrition in the economically-developed world: A review. *Nutrients* 5, 3184–3211. doi:10.3390/nu5083184
- Lock, A.L., Harvatine, K.J., Drackley, J.K., Bauman, D.E., 2006. Concepts in fat and fatty acid digestion in ruminants, in: *Proceedings of the Intermountain Nutrition Conference*. pp. 85–100.
- Lor, J.J., Hoover, W.H., Miller-Webster, T.K., Herbein, J.H., Polan, C.E., 2003. Biohydrogenation of

- unsaturated fatty acids in continuous culture fermenters during digestion of orchardgrass or red clover with three levels of ground corn supplementation. *J. Anim. Sci.* 81, 1611–1627. doi:10.2527/2003.8161611x
- Lourenço, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R.J., 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal* 4, 1008–1023. doi:10.1017/S175173111000042X
- Lourenço, M., Vanranst, G., Vlaeminck, B., De Smet, S., Fievez, V., 2008. Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 418–437. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.05.043
- Lundy, F.P., Block, E., Bridges, W.C., Bertrand, J.A., Jenkins, T.C., 2004. Ruminant biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. *J. Dairy Sci.* 87, 1038–1046. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73249-X
- Maia, M.R.G., 2010. Microorganisms and dietary factors affecting biohydrogenation and conjugated linoleic acid production in the rumen ecosystem. UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA.
- Maia, M.R.G., Chaudhary, L.C., Bestwick, C.S., Richardson, A.J., McKain, N., Larson, T.R., Graham, I.A., Wallace, R.J., 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiol.* 10, 52. doi:10.1186/1471-2180-10-52
- Maia, M.R.G., Chaudhary, L.C., Figueres, L., Wallace, R.J., 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek* 91, 303–314. doi:10.1007/s10482-006-9118-2
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71, 100–121. doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.003
- Mapiye, C., Aalhus, J.L., Turner, T.D., Rolland, D.C., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., Block, H.C., Uttaro, B., Lopez-Campos, O., Proctor, S.D., Dugan, M.E.R., 2013a. Effects of feeding flaxseed or sunflower-seed in high-forage diets on beef production, quality and fatty acid composition. *Meat Sci.* 95, 98–109. doi:10.1016/j.meatsci.2013.03.033
- Mapiye, C., Aldai, N., Turner, T.D., Aalhus, J.L., Rolland, D.C., Kramer, J.K.G., Dugan, M.E.R., 2012a. The labile lipid fraction of meat: from perceived disease and waste to health and opportunity. *Meat Sci.* 92, 210–220. doi:10.1016/j.meatsci.2012.03.016
- Mapiye, C., Dugan, M.E.R., Juárez, M., Basarab, J.A., Baron, V.S., Turner, T., Yang, X., Aldai, N., Aalhus, J.L., 2012b. Influence of α -tocopherol supplementation on trans-18:1 and conjugated linoleic acid profiles in beef from steers fed a barley-based diet. *Animal* 6, 1888–1896. doi:10.1017/S1751731112000730
- Mapiye, C., Turner, T.D., Rolland, D.C., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., Block, H.C., Uttaro, B., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., 2013b. Adipose tissue and muscle fatty acid profiles of steers fed red clover silage with and without flaxseed. *Livest. Sci.* 151, 11–20. doi:10.1016/j.livsci.2012.10.021
- Mapiye, C., Vahmani, P., Mlambo, V., Muchenje, V., Dzama, K., Hoffman, L.C., Dugan, M.E.R., 2015. The trans-octadecenoic fatty acid profile of beef: Implications for global food and nutrition security. *Food Res. Int.* 76, 992–1000. doi:10.1016/j.foodres.2015.05.001
- Martel, C.A., Titgemeyer, E.C., Mamedova, L.K., Bradford, B.J., 2011. Dietary molasses increases ruminal pH and enhances ruminal biohydrogenation during milk fat depression. *J. Dairy Sci.* 94, 3995–4004. doi:10.3168/jds.2011-4178
- Martin, S.A., Jenkins, T.C., 2002. Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.* 80, 3347–3352. doi:10.2527/2002.80123347x
- McAfee, A.J., McSorley, E.M., Cuskelly, G.J., Moss, B.W., Wallace, J.M.W., Bonham, M.P., Fearon, A.M., 2010. Red meat consumption: an overview of the risks and benefits. *Meat Sci.* 84, 1–13. doi:10.1016/j.meatsci.2009.08.029
- McKeown, L.E., Chaves, A. V., Oba, M., Dugan, M.E.R., Okine, E., Mcallister, T.A., 2010a. Effects of replacing barley grain with triticale-based dried distillers' grains with solubles on nutrient digestibility, lamb growth performance and carcass traits. *Can. J. Anim. Sci.* 90, 87–98. doi:10.4141/CJAS09063

- McKeown, L.E., Chaves, A. V., Oba, M., Dugan, M.E.R., Okine, E., McAllister, T.A., 2010b. Effects of corn-, wheat- or triticale dry distillers' grains with solubles on in vitro fermentation, growth performance and carcass traits of lambs. *Can. J. Anim. Sci.* 90, 99–108. doi:10.4141/CJAS09084
- McNeill, S.H., 2014. Inclusion of red meat in healthful dietary patterns. *Meat Sci.* 98, 452–460. doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.028
- Mele, M., Serra, A., Pauselli, M., Luciano, G., Lanza, M., Pennisi, P., Conte, G., Taticchi, A., Esposto, S., Morbidini, L., 2014. The use of stoned olive cake and rolled linseed in the diet of intensively reared lambs: effect on the intramuscular fatty-acid composition. *Animal* 8, 152–162. doi:10.1017/S1751731113001924
- Mello, A.S., Jenschke, B.E., Senaratne, L.S., Carr, T.P., Erickson, G.E., Clakins, C.R., 2012. Effects of feeding modified distillers grains plus solubles on marbling attributes, proximate composition, and fatty acid profile of beef. *J. Anim. Sci.* 90, 4634–4640. doi:10.2527/jas.2010-3240
- Mensink, R.P., Zock, P.L., Kester, A.D.M., Katan, M.B., 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 77, 1146–1155.
- Mertens, D.R., Allen, M., Carmany, J., Clegg, J., Davidowicz, A., Drouches, M., Frank, K., Gambin, D., Garkie, M., Gildemeister, B., Jeffress, D., Jeon, C.S., Jones, D., Kaplan, D., Kim, G.N., Kobata, S., Main, D., Moua, X., Paul, B., Robertson, J., Taysom, D., Thiex, N., Williams, J., Wolf, M., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 85, 1217–1240.
- Minato, H., Ishibashi, S., Hamaoka, T., 1988. Cellular fatty acid and sugar composition of representative strains of rumen bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 34, 303–319.
- Mir, P.S., Bittman, S., Hunt, D., Entz, T., Yip, B., 2006. Lipid content and fatty acid composition of grasses sampled on different dates through the early part of the growing season. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 279–290. doi:10.4141/A05-050
- Miyagawa, E., 1982. Cellular fatty acid and fatty aldehyde composition of rumen bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 408, 389–408. doi:10.2323/jgam.28.389
- Mohammed, R., Kennelly, J.J., Kramer, J.K.G., Beauchemin, K.A., Stanton, C.S., Murphy, J.J., 2010. Effect of grain type and processing method on rumen fermentation and milk rumenic acid production. *Animal* 4, 1425–1444. doi:10.1017/S175173111000039X
- Montossi, F., Font-i-furnols, M., Campo, M., Julián, R.S., Brito, G., Sañudo, C., 2013. Sustainable sheep production and consumer preference trends: Compatibilities, contradictions, and unresolved dilemmas. *Meat Sci.* 95, 772–789. doi:10.1016/j.meatsci.2013.04.048
- Morales, R., Ungerfeld, E.M., 2015. Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: A review. *Chil. J. Agric. Res.* 75, 239–248. doi:10.4067/S0718-58392015000200014
- Morand-Fehr, P., Tran, G., 2001. La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale. *Prod. Anim.* 14, 285–302.
- Morvan, B., Joblin, K.N., 1999. Hydration of oleic acid by *Enterococcus gallinarum*, *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus* sp isolated from the rumen. *Anaerobe* 5, 605–611. doi:http://dx.doi.org/10.1006/anae.1999.0306
- Mosley, E.E., Powell, G.L., Riley, M.B., Jenkins, T.C., 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. *J. Lipid Res.* 43, 290–296.
- Mouratidou, T., Livaniou, A., Saborido, C.M., Wollgast, J., Caldeira, S., 2014. Trans fatty acids in Europe: where do we stand? A synthesis of the evidence:2003-2013. Luxembourg. doi:10.2788/1070
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P.E., Hugo, A., Raats, J.G., 2009. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chem.* 112, 279–289. doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.103
- Murray, H.H., 2007. Applied clay mineralogy, 1st Editio. ed. Elsevier B.V.

- Murray, P.J., Winslow, S.G., Rowe, J.B., 1992. Effect of dry or hydrated bentonite on the wool growth and liveweight gain of sheep fed wheat chaff. *Aust. J. Exp. Agric.* 32, 595–600. doi:10.1071/EA9920595
- Nafikov, R.A., Beitz, D.C., 2007. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *J. Nutr.* 137, 702–705.
- Nam, I.S., Garnsworthy, P.C., 2007a. Biohydrogenation pathways for linoleic and linolenic acids by *Orpinomyces rumen* fungus. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 20, 1694–1698. doi:10.5713/ajas.2007.1694
- Nam, I.S., Garnsworthy, P.C., 2007b. Biohydrogenation of linoleic acid by rumen fungi compared with rumen bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 103, 551–556. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03317.x
- Nassu, R., Dugan, M.E.R., He, M.L., Mcallister, T.A., Aalhus, J.L., Aldai, N., Kramer, J.K.G., 2011. The effects of feeding flaxseed to beef cows given forage based diets on fatty acids of longissimus thoracis muscle and backfat. *Meat Sci.* 89, 469–477. doi:10.1016/j.meatsci.2011.05.016
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2005. Lipids, in: Nelson, D.L., Cox, M.M. (Eds.), *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman and Company, p. 1216. doi:10.1016/B978-1-85617-803-7.50022-5
- Noci, F., French, P., Monahan, F.J., Moloney, A.P., 2007a. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of grazing heifers supplemented with plant oil-enriched concentrates. *J. Anim. Sci.* 85, 1062–1073. doi:10.2527/jas.2006-105
- Noci, F., Monahan, F.J., Scollan, N.D., Moloney, A.P., 2007b. The fatty acid composition of muscle and adipose tissue of steers offered unwilted or wilted grass silage supplemented with sunflower oil and fish oil. *Br. J. Nutr.* 97, 502–513. doi:10.1017/S0007114507381361
- Noci, F., O'Kiely, P., Monahan, F.J., Stanton, C., Moloney, A.P., 2005. Conjugated linoleic acid concentration in M. Longissimus dorsi from heifers offered sunflower oil-based concentrates and conserved forages. *Meat Sci.* 69, 509–518. doi:10.1016/j.meatsci.2004.09.006
- O'Leary, F., Samman, S., 2010. Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients* 2, 299–316. doi:10.3390/nu2030299
- Oliveira, M.A., Alves, S.P., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2017. Effect of dietary starch level and its rumen degradability on lamb meat fatty acid composition. *Meat Sci.* 123, 166–172. doi:10.1016/j.meatsci.2016.10.001
- Oliveira, M.A., Alves, S.P., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., 2016. Effects of clays used as oil adsorbents in lamb diets on fatty acid composition of abomasal digesta and meat. *Anim. Feed Sci. Technol.* 213, 64–73. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.01.006
- Palmquist, D.L., Jenkins, T.C., Joyner, A.E., 1986. Effect of dietary fat and calcium source on insoluble soap formation in the rumen. *J. Dairy Sci.* 69, 1020–1025. doi:10.3168/jds.S0022-0302(86)80497-0
- Palmquist, D.L., Lock, A.L., Shingfield, K.J., Bauman, D.E., 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. *Adv. Food Nutr. Res.* 50, 179–217. doi:10.1016/S1043-4526(05)50006-8
- Palmquist, D.L., St-Pierre, N., McClure, K.E., 2004. Tissue fatty acid profiles can be used to quantify endogenous rumenic acid synthesis in lambs. *J. Nutr.* 134, 2407–2414.
- Park, Y., 2009. Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad trans fat? *J. Food Compos. Anal.* 225, 4–12. doi:10.1016/j.jfca.2008.12.002
- Parrish, F.C., Beitz, D.C., Duc, M., Trenkle, A.H., Ahn, D.U., Wiegand, B.R., 2003. Use of dietary CLA to improve quality of animal-derived foods, in: Christie, W.W., Sébédio, J.-L., Adlof, R. (Eds.), *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. AOCS Publishing, pp. 189–217. doi:10.1201/9781439822166.ch12
- Paton, C.M., Ntambi, J.M., 2009. Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 297, E28–E37. doi:10.1152/ajpendo.90897.2008
- Patra, A.K., Saxena, J., 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 91, 24–37. doi:10.1002/jsfa.4152

- Patra, A.K., Saxena, J., 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers : a review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek* 96, 363–375. doi:10.1007/s10482-009-9364-1
- Pereira, P.M.C.C., Vicente, A.F.R.B., 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Sci.* 93, 586–592. doi:10.1016/j.meatsci.2012.09.018
- Pethick, D.W., Ball, A.J., Banks, R.G., Hocquette, J.F., 2010. Current and future issues facing red meat quality in a competitive market and how to manage continuous improvement. *Anim. Prod. Sci.* 51, 13–18. doi:10.1071/AN10041
- Petri, R.M., Forster, R.J., Yang, W., McKinnon, J.J., McAllister, T.A., 2012. Characterization of rumen bacterial diversity and fermentation parameters in concentrate fed cattle with and without forage. *J. Appl. Microbiol.* 112, 1152–1162. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05295.x
- Petri, R.M., Mapiye, C., Dugan, M.E.R., McAllister, T.A., 2014. Subcutaneous adipose fatty acid profiles and related rumen bacterial populations of steers fed red clover or grass hay diets containing flax or sunflower-seed. *PLoS One* 9, e104167. doi:10.1371/journal.pone.0104167
- Ponnampalam, E.N., Norng, S., Burnett, V.F., Dunshea, F.R., Jacobs, J.L., Hopkins, D.L., 2014. The synergism of biochemical components controlling lipid oxidation in lamb muscle. *Lipids* 49, 757–766. doi:10.1007/s11745-014-3916-5
- Popova, T., Gonzales-Barron, U., Cadavez, V., 2015. A meta-analysis of the effect of pasture access on the lipid content and fatty acid composition of lamb meat. *Food Res. Int.* 77, 476–483. doi:10.1016/j.foodres.2015.08.020
- Prache, S., Bauchart, D., 2015. La viande et la carcasse des agneaux: les principales qualités recherchées. *INRA Prod. Anim.* 28, 105–110.
- Priolo, A., Bella, M., Lanza, M., Galofaro, V., Biondi, L., Barbagallo, D., Salem, H.B., Pennisi, P., 2005. Carcass and meat quality of lambs fed fresh sulla (*Hedysarum coronarium* L.) with or without polyethylene glycol or concentrate. *Small Rumin. Res.* 59, 281–288. doi:10.1016/j.smallrumres.2005.05.012
- Priolo, A., Micol, D., Agabriel, J., 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Anim. Res.* 50, 185–200. doi:10.1051/animres:2001125
- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D., 2004. Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 113, 199–221. doi:10.1016/j.anifeedsci.2003.09.001
- Rindsig, R.B., Schultz, L.H., Shook, G.E., 1969. Effects of the addition of bentonite to high-grain dairy rations which depress milk fat percentage. *J. Dairy Sci.* 52, 1770–1775. doi:10.3168/jds.S0022-0302(69)86839-6
- Rosa, H.J.D., Rego, O., Silva, C.C.G., Alves, S.P., 2014. Effect of corn supplementation of grass finishing of Holstein bulls on fatty acid composition of meat lipids. *J. Anim. Sci.* 92, 3701–3714. doi:10.2527/jas2014-6982
- Roy, A., Chardigny, J.M., Bauchart, D., Ferlay, A., Lorenz, S., Durand, D., Gruffat, D., Faulconnier, Y., Sebedio, J.L., Chilliard, Y., 2007. Butters rich either in trans-10-C18:1 or in trans-11-C18:1 plus cis-9, trans-11 CLA differentially affect plasma lipids and aortic fatty streak in experimental atherosclerosis in rabbits. *Animal* 1, 467–476. doi:10.1017/S175173110770530x
- Sackmann, J.R., Duckett, S.K., Gillis, M.H., Realini, C.E., Parks, A.H., Eggelston, R.B., 2003. Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* 81, 3174–3181. doi:10.2527/2003.81123174x
- Salter, A.M., 2013. Dietary fatty acids and cardiovascular disease. *Animal* 7, 163–171. doi:10.1017/S1751731111002023
- Sami, A.S., Koegel, J., Eichinger, H., Freudenreich, P., Schwarz, F.J., 2006. Effects of the dietary energy source on meat quality and eating quality attributes and fatty acid profile of Simmental bulls. *Anim. Res.* 55, 287–299. doi:10.1051/animres:2006016
- Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, F., 2002a. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat. *Livest. Prod. Sci.* 77, 187–194. doi:10.1016/S0301-6226(02)00059-3

- Santos-Silva, J., Dentinho, M.T., Francisco, A., Portugal, A.P., Belo, A.T., Martins, A.P.L., Alves, S.P., Bessa, R.J.B., 2016. Replacing cereals with dehydrated citrus pulp in a soybean oil supplemented diet increases vaccenic and rumenic acids in ewe milk. *J. Dairy Sci.* 99, 1173–1182. doi:10.3168/jds.2015-9966
- Santos-Silva, J., Mendes, I.A., Bessa, R.J.B., 2002b. The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. 1. Growth, carcass composition and meat quality. *Livest. Prod. Sci.* 76, 17–25. doi:10.1016/S0301-6226(01)00334-7
- Santos-Silva, J., Mendes, I.A., Portugal, P. V., Bessa, R.J.B., 2004. Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs. *Livest. Prod. Sci.* 90, 79–88. doi:10.1016/j.livprodsci.2004.02.013
- Sañudo, C., Enser, M.E., Campo, M.M., Nute, G.R., María, G., Sierra, I., Wood, J.D., 2000. Fatty acid composition and sensory characteristics of lamb carcasses from Britain and Spain. *Meat Sci.* 54, 339–346. doi:10.1016/S0309-1740(99)00108-4
- Sañudo, C., Nute, G.R., Campo, M.M., Maria, G., Baker, A., Sierra, I., Enser, M.E., Wood, J.D., 1998. Assessment of commercial lamb meat quality by British and Spanish taste panels. *Meat Sci.* 48, 91. doi:10.1016/S0309-1740(97)00080-6
- Saro, C., Carro, M.D., Tejido, M.L., Ranilla, M.J., 2011. Diversity of bacterial communities isolated from the solid and liquid phase of the rumen of sheep fed diets of variable composition, in: Ranilla, M.J., Carro, M.D., Ben Salem, H., Morand-Fehr, P. (Eds.), *Options Méditerranéennes. Séries A. Mediterranean Seminars*. Zaragoza, pp. 169–174.
- Sauvant, D., Bas, P., 2001. La digestion des lipides chez le ruminant. *Prod. Anim.* 14, 303–310.
- Sauvant, D., Meschy, F., Mertens, D., 1999. Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *Prod. Anim.* 12, 49–60.
- Sauvant, D., Perez, J.-M., Tran, G., 2002. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. INRA Editions, Paris.
- Schmid, A., 2011. The role of meat fat in the human diet. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51, 50–66. doi:10.1080/10408390903044636
- Schmid, A., Collomb, M., Sieber, R., Bee, G., 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Sci.* 73, 29–41. doi:10.1016/j.meatsci.2005.10.010
- Schmid, A., Walther, B., 2013. Natural vitamin D content in animal products. *Adv. Nutr. An Int. Rev. J.* 4, 453–462. doi:10.3945/an.113.003780
- Scollan, N.D., Choi, N.J., Kurt, E., Fisher, A. V., Enser, M., Wood, J.D., 2001a. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *Br. J. Nutr.* 85, 115–124. doi:10.1079/BJN2000223
- Scollan, N.D., Dannenberger, D., Nuernberg, K., Richardson, I., MacKintosh, S., Hocquette, J.F., Moloney, A.P., 2014. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 97, 384–394. doi:10.1016/j.meatsci.2014.02.015
- Scollan, N.D., Dhanoa, M.S., Choi, N.J., Maend, W.J., Enser, M., Wood, J.D., 2001b. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. *J. Agric. Sci.* 136, 345–355. doi:10.1017/S0021859601008796
- Scollan, N.D., Hocquette, J.F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I., Moloney, A., 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 74, 17–33. doi:10.1016/j.meatsci.2006.05.002
- Shah, M.A., Bosco, S.J.D., Mir, S.A., 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci.* 98, 21–33. doi:10.1016/j.meatsci.2014.03.020
- Shingfield, K.J., Bernard, L., Leroux, C., Chilliard, Y., 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4, 1140–1166. doi:10.1017/S1751731110000510
- Shingfield, K.J., Bonnet, M., Scollan, N.D., 2013. Recent developments in altering the fatty acid

- composition of ruminant-derived foods. *Animal* 7 Suppl 1, 132–162. doi:10.1017/S1751731112001681
- Shingfield, K.J., Wallace, R.J., 2014. Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans, in: Sels, B., Philippaerts, A. (Eds.), *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*. Royal Society of Chemistry, pp. 179–217.
- Sinclair, L.A., 2007. Nutritional manipulation of the fatty acid composition of sheep meat: a review. *J. Agric. Sci.* 145, 419–434. doi:10.1017/S0021859607007186
- Sinclair, L.A., Cooper, S. I., Chikunya, S., Wilkinson, R.G., Hallett, K.G., Enser, M., Wood, J.D., 2005. Biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids in the rumen and their effects on microbial metabolism and plasma fatty acid concentrations in sheep. *Anim. Sci.* 81, 239–248. doi:10.1079/ASC50040239
- Singh, V.P., Sachan, N., 2011. Conjugated linoleic acid: a good fat for human health - a review. *Int. J. Dairy Sci.* 6, 165–171. doi:10.3923/ijds.2011.165.171
- Siurana, A., Calsamiglia, S., 2016. A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *Anim. Feed Sci. Technol.* 217, 13–26. doi:10.1016/j.anifeedsci.2016.04.013
- Smith, A.H., Zoetendal, E., Mackie, R.I., 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microb. Ecol.* 50, 197–205. doi:10.1007/s00248-004-0180-x
- Smith, S.B., Gill, C.A., Lunt, D.K., Brooks, M.A., 2009a. Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 22, 1225–1233. doi:10.5713/ajas.2009.r.10
- Smith, S.B., Grouse, A.D., 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *J. Nutr.* 114, 792–800.
- Smith, S.B., Kawachi, H., Choi, C.B., Choi, C.W., Wu, G., Sawyer, J.E., 2009b. Cellular regulation of bovine intramuscular adipose tissue development and composition. *J. Anim. Sci.* 87, E72–E82. doi:10.2527/jas.2008-1340
- Smith, S.B., Lunt, D.K., Chung, K.Y., Choi, C.B., Tume, R.K., Zembayashi, M., 2006. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. *Anim. Sci. J.* 77, 478–486. doi:10.1111/j.1740-0929.2006.00375.x
- Song, M.K., Jin, G.L., Ji, B.J., Chang, S.S., Jeong, J., Smith, S.B., Choi, S.H., 2010. Conjugated linoleic acids content in *M. longissimus dorsi* of Hanwoo steers fed a concentrate supplemented with soybean oil, sodium bicarbonate-based monensin, fish oil. *Meat Sci.* 85, 210–214. doi:10.1016/j.meatsci.2010.01.001
- Stanley, J.C., Elsom, R.L., Calder, P.C., Griffin, B.A., William, S., Jebb, S.A., Lovegrove, J.A., Moore, C.S., Riemersma, R.A., Sanders, T.A.B., 2007. UK food standards agency workshop report: the effects of the dietary n-6:n-3 fatty acid ratio on cardiovascular health. *Br. J. Nutr.* 98, 1305–1310. doi:10.1017/S000711450784284X.UK
- Sterk, A., Hovenier, R., Vlaeminck, B., van Vuuren, A.M., Hendriks, W.H., Dijkstra, J., 2010. Effects of chemically or technologically treated linseed products and docosahexaenoic acid addition to linseed oil on biohydrogenation of C18:3n-3 in vitro. *J. Dairy Sci.* 93, 5286–5299. doi:10.3168/jds.2010-3144
- Sukhija, P.S., Palmquist, D.L., 1990. Dissociation of calcium soaps of long-chain fatty acids in rumen fluid. *J. Dairy Sci.* 73, 1784–1787. doi:10.3168/jds.S0022-0302(90)78858-3
- Sukhija, P.S., Palmquist, D.L., 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* 36, 1202–1206. doi:10.1021/Jf00084a019
- Sullivan, G.A., Calkins, C.R., 2011. Ranking beef muscles for Warner–Bratzler shear force and trained sensory panel ratings from published literature. *J. Food Qual.* 34, 195–203. doi:DOI: 10.1111/j.1745-4557.2011.00386.x
- Suman, S.P., Joseph, P., 2013. Myoglobin chemistry and meat color. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 4, 79–99. doi:10.1146/annurev-food-030212-182623
- Svihus, B., Uhlen, A.K., Harstad, O.M., 2005. Effect of starch granule structure, associated

- components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 122, 303–320. doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.02.025
- Tajima, K., Aminov, R.I., Nagamine, T., Matsui, H., Nakamura, M., Benno, Y., 2001. Diet-Dependent Shifts in the Bacterial Population of the Rumen Revealed with Real-Time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2766–2774. doi:10.1128/AEM.67.6.2766-2774.2001
- Tamminga, S., van Vuuren, A.M., van der Koelen, C.J., Khattab, H.M., van Gils, L.G.M., 1983. Further studies on the effect of fat supplementation of concentrates fed to lactating dairy cows. 3. Effect on rumen fermentation and site of digestion of dietary components. *Netherlands J. Agric. Sci.* 31, 249–258.
- Theurer, M.L., Block, E., Sanchez, W.K., McGuire, M. a, 2009. Calcium salts of polyunsaturated fatty acids deliver more essential fatty acids to the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 92, 2051–2056. doi:10.3168/jds.2008-1276
- Thornton, P.K., 2010. Livestock production: recent trends, future prospects. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 365, 2853–2867. doi:10.1098/rstb.2010.0134
- Troegeler-Meynadier, A., Bret-Bennis, L., Enjalbert, F., 2006. Rates and efficiencies of reactions of ruminal biohydrogenation of linoleic acid according to pH and polyunsaturated fatty acids concentrations. *Reprod. Nutr. Dev.* 46, 713–724. doi:10.1051/rnd:2006046
- Troegeler-Meynadier, A., Enjalbert, F., 2005. Les acides linoléiques conjugués: 2. Origines et effets sur les productions animales. *Rev. Med. Vet. (Toulouse)*. 156, 281–288.
- Troegeler-Meynadier, A., Palagiano, C., Enjalbert, F., 2014. Effects of pH and fermentative substrate on ruminal metabolism of fatty acids during short-term in vitro incubation. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. 98, 704–713. doi:10.1111/jpn.12128
- Troy, D.J., Kerry, J.P., 2010. Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Sci.* 86, 214–226. doi:10.1016/j.meatsci.2010.05.009
- Turner, T., Rolland, D.C., Aldai, N., Dugan, M.E.R., 2011. Rapid separation of cis9, trans11- and trans7,cis9-18:2 (CLA) isomers from ruminant tissue using a 30 m SLB-IL111 ionic column. *Can. J. Anim. Sci.* 91, 711–713. doi:10.4141/Cjas2011-071
- Turner, T.D., Mitchell, A., Duynisveld, J., Pickova, J., Doran, O., McNiven, M.A., 2012. Influence of oilseed supplement ranging in n-6/n-3 ratio on fatty acid composition and $\Delta 5$ -, $\Delta 6$ -desaturase protein expression in steer muscles. *Animal* 6, 1973–1984. doi:10.1017/S1751731112000985
- Turpeinen, A.M., Mutanen, M., Aro, A., Salminen, I., Basu, S., Palmquist, D.L., Griinari, J.M., 2002. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 504–510.
- Uauy, R., Aro, A., Clarke, R., L'Abbé, M.R., Mozaffarian, D., Skeaff, C.M., Stender, S., Tavella, M., 2009. WHO Scientific Update on trans fatty acids: summary and conclusions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63, S68–S75. doi:10.1038/ejcn.2009.15
- UE, 2010. Regulamento (UE) n.º 116/2010 da Comissão de 9 de Fevereiro de 2010 que altera o Regulamento (CE) n.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho no que se refere à lista de alegações nutricionais. *J. Of. da União Eur.* 16–18.
- UE, 2006. Regulation (EC) n.º 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *J. Of. da União Eur. L* 269, 1–15. doi:2004R0726 - v.7 of 05.06.2013
- Vahmani, P., Mapiye, C., Prieto, N., Rolland, D.C., McAllister, T.A., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., 2015. The scope for manipulating the polyunsaturated fatty acid content of beef: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 29. doi:10.1186/s40104-015-0026-z
- Valsta, L.M., Tapanainen, H., Mannisto, S., 2005. Meat fats in nutrition. *Meat Sci.* 70, 525–530. doi:10.1016/j.meatsci.2004.12.016
- van de Vossenberg, J.L.C.M., Joblin, K.N., 2003. Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Lett. Appl. Microbiol.* 37, 424–428. doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01421.x
- van Nevel, C.J., Demeyer, D.I., 1995. Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen in

- vitro: inhibition by antimicrobials. *J. Dairy Sci.* 78, 2797–2806. doi:10.3168/jds.S0022-0302(95)76910-7
- Van Nevel, C.J., Demeyer, D.I., 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reprod. Nutr. Dev.* 36, 53–63.
- Van Ranst, G., Lee, M.R.F., Fievez, V., 2011. Red clover polyphenol oxidase and lipid metabolism. *Animal* 5, 512–521. doi:10.1017/S1751731110002028
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
- Vander Pol, K.J., Luebbe, M.K., Crawford, G.I., Erickson, G.E., Klopfenstein, T.J., 2009. Performance and digestibility characteristics of finishing diets containing distillers grains, composites of corn processing coproducts, or supplemental corn oil. *J. Anim. Sci.* 87, 639–652. doi:10.2527/jas.2008-1036
- Vasta, V., Aouadi, D., Brogna, D.M.R., Scerra, M., Luciano, G., Priolo, A., Salem, H.B., 2013. Effect of the dietary supplementation of essential oils from rosemary and artemisia on muscle fatty acids and volatile compound profiles in Barbarine lambs. *Meat Sci.* 95, 235–241. doi:10.1016/j.meatsci.2012.12.021
- Vasta, V., Jerónimo, E., Brogna, D.M.R., Dentinho, M.T.P., Biondi, L., Santos-Silva, J., Priolo, A., Bessa, R.J.B., 2010a. The effect of grape seed extract or *Cistus ladanifer* L. on muscle volatile compounds of lambs fed dehydrated lucerne supplemented with oil. *Food Chem.* 119, 1339–1345. doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.010
- Vasta, V., Luciano, G., 2011. The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Rumin. Res.* 101, 150–159. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.09.035
- Vasta, V., Mele, M., Serra, A., Scerra, M., Luciano, G., Lanza, M., Priolo, A., 2009. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *J. Anim. Sci.* 87, 2674–2684. doi:10.2527/jas.2008-1761
- Vasta, V., Pennisi, P., Lanza, M., Barbagallo, D., Bella, M., Priolo, A., 2007. Intramuscular fatty acid composition of lambs given a tanniniferous diet with or without polyethylene glycol supplementation. *Meat Sci.* 76, 739–745. doi:10.1016/j.meatsci.2007.02.015
- Vasta, V., Yáñez-Ruiz, D.R., Mele, M., Serra, A., Luciano, G., Lanza, M., Biondi, L., Priolo, A., 2010b. Bacterial and protozoal communities and fatty acid profile in the rumen of sheep fed a diet containing added tannins. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 2549–2555. doi:10.1128/AEM.02583-09
- Vernon, R.G., Flint, D.J., 1988. Lipid metabolism in farm animals. *Proc. Nutr. Soc.* 47, 287–293.
- Vlaeminck, B., Dewhurst, R.J., Demeyer, D., Fievez, V., 2004. Odd and branched chain fatty acids to estimate proportions of cellulolytic and amylolytic particle associated bacteria. *J. Anim. Feed Sci.* 13, 235–238. doi:1854/3105
- Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A.R.J., Fonseca, A.J.M., Dewhurst, R.J., 2006a. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 389–417. doi:10.1016/j.anifeedsci.2006.06.017
- Vlaeminck, B., Fievez, V., Demeyer, D., Dewhurst, R.J., 2006b. Effect of forage:concentrate ratio on fatty acid composition of rumen bacteria isolated from ruminal and duodenal digesta. *J. Dairy Sci.* 89, 2668–2678. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72343-8
- Vlaeminck, B., Fievez, V., Tamminga, S., Dewhurst, R.J., van Vuuren, A.M., De Brabander, D., Demeyer, D., 2006c. Milk odd- and branched-chain fatty Acids in relation to the rumen fermentation pattern. *J. Dairy Sci.* 89, 3954–3964. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72437-7
- Waghorn, G., 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147, 116–139. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.09.013
- Wallace, R.J., 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proc. Nutr. Soc.* 63, 621–629. doi:10.1079/PNS2004393

- Wallace, R.J., Arthaud, L., Newbold, C.J., 1994. Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 1762–1767.
- Wallace, R.J., Newbold, C.J., 1991. Effects of bentonite on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec) and on rumen ciliate protozoa. *J. Agric. Sci.* 116, 163–168. doi:10.1017/S0021859600076279
- Wang, Y.Y., Jacome-Sosa, M.M., Proctor, S.D., 2012. The role of ruminant trans fat as a potential nutraceutical in the prevention of cardiovascular disease. *Food Res. Int.* 46, 460–468. doi:10.1016/j.foodres.2011.08.019
- Warner, R.D., Greenwood, P.L., Pethick, D.W., Ferguson, D.M., 2010. Genetic and environmental effects on meat quality. *Meat Sci.* 86, 171–183. doi:10.1016/j.meatsci.2010.04.042
- Watkins, B., Li, Y., 2003. CLA in functional food: Enrichment of animal products, in: Christie, W.W., Sébédio, J.-L., Adlof, R. (Eds.), *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. AOCS Press, pp. 174–188. doi:10.1201/9781439822166.ch11
- Webb, E.C., O'Neill, H.A., 2008. The animal fat paradox and meat quality. *Meat Sci.* 80, 28–36. doi:10.1016/j.meatsci.2008.05.029
- Weimer, P.J., 2015. Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. *Front. Microbiol.* 6, 296. doi:10.3389/fmicb.2015.00296
- Welch, A.A., Shakya-Shrestha, S., Wareham, N.J., Khaw, K.-T., 2010. Dietary intake and status of n-3 polyunsaturated fatty acids in a population of fish-eating and non-fish-eating meat-eaters, vegetarians, and vegans and the precursor-product ratio of α -linolenic acid to long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids: results. *Am. J. Clin. Nutr.* 3, 1040–1051. doi:10.3945/ajcn.2010.29457
- Willems, H., Kreuzer, M., Leiber, F., 2014. Alpha-linolenic and linoleic acid in meat and adipose tissue of grazing lambs differ among alpine pasture types with contrasting plant species and phenolic compound composition. *Small Rumin. Res.* 116, 153–164. doi:10.1016/j.smallrumres.2013.11.002
- Williams, C.M., 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.* 49, 165–180. doi:10.1051/animres:2000116
- Williams, P., 2007. Nutritional composition of red meat. *Nutr. Diet.* 64, 5–7. doi:10.1111/j.1747-0080.2007.00197.x
- Williamson, C.S., Foster, R.K., Stanner, S. a, Buttriss, J.L., 2005. Red meat in the diet. *BNF Nutr. Bull.* 30, 323–355. doi:10.1111/j.1467-3010.2005.00525.x
- Wood, J.D., Enser, M., 1997. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *Br. J. Nutr.* 78, s49–s60. doi:10.1079/BJN19970134
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A. V, Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78, 343–358. doi:10.1016/j.meatsci.2007.07.019
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, a V, Nute, G.R., Richardson, R.I., Sheard, P.R., 1999. Manipulating meat quality and composition. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 363–370. doi:10.1017/S0029665199000488
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A. V, Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M., 2003. Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66, 21–32. doi:10.1016/S0309-1740(03)00022-6
- Woods, V.B., Fearon, A.M., 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. *Livest. Sci.* 126, 1–20. doi:10.1016/j.livsci.2009.07.002
- Wyness, L., 2015. The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proc. Nutr. Soc.* 25, 1–6. doi:10.1017/S0029665115004267
- Wyness, L., Weichselbaum, E., O'Connor, A., Williams, E.B., Benelam, B., Riley, H., Stanner, S., 2011. Red meat in the diet: An update. *BNF Nutr. Bull.* 36, 34–77. doi:10.1111/j.1467-3010.2010.01871.x

- Wynn, R.J., Daniel, Z.C.T.R., Flux, C.L., Craigon, J., Salter, A.M., Buttery, P.J., 2006. Effect of feeding rumen-protected conjugated linoleic acid on carcass characteristics and fatty acid composition of sheep tissues. *J. Anim. Sci.* 84, 3440–3450. doi:10.2527/jas.2006-159
- Yahaghi, M., Liang, J.B., Balcells, J., Valizadeh, R., Seradj, A.R., Alimon, R., Ho, Y.W., 2013. Effect of substituting barley with sorghum on starch digestion, rumen microbial yield and growth in Iranian Baluchi lambs fed high concentrate diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 183, 96–105. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.04.019
- Yang, S.L., Bu, D.P., Wang, J.Q., Hu, Z.Y., Li, D., Wei, H.Y., Zhou, L.Y., Loo, J.J., 2009. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal* 3, 1562–1569. doi:10.1017/S1751731109990462
- Zened, A., Combes, S., Cauquil, L., Mariette, J., Klopp, C., Bouchez, O., Troegeler-Meynadier, A., Enjalbert, F., 2013a. Microbial ecology of the rumen evaluated by 454 GS FLX pyrosequencing is affected by starch and oil supplementation of diets. *FEMS Microbiol. Ecol.* 83, 504–514. doi:10.1111/1574-6941.12011
- Zened, A., Enjalbert, F., Nicot, M.C., Troegeler-Meynadier, A., 2013b. Starch plus sunflower oil addition to the diet of dry dairy cows results in a trans-11 to trans-10 shift of biohydrogenation. *J. Dairy Sci.* 96, 451–459. doi:10.3168/jds.2012-5690
- Zened, A., Enjalbert, F., Nicot, M.C., Troegeler-Meynadier, A., 2012. In vitro study of dietary factors affecting the biohydrogenation shift from trans-11 to trans-10 fatty acids in the rumen of dairy cows. *Animal* 6, 459–467. doi:10.1017/S1751731111001777
- Zened, A., Troegeler-Meynadier, A., Nicot, M.C., Combes, S., Cauquil, L., Farizon, Y., Enjalbert, F., 2011. Starch and oil in the donor cow diet and starch in substrate differently affect the in vitro ruminal biohydrogenation of linoleic and linolenic acids. *J. Dairy Sci.* 94, 5634–5645. doi:10.3168/jds.2011-4491
- Zinn, R.A., Gulati, S.K., Plascencia, A., Salinas, J., 2000. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 78, 1738–1746. doi:10.2527/2000.7871738x
- Zorec, M., Vodovnik, M., Logar, R.M., 2011. Using a different growth medium greatly improves distinction of *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* strains by the cellular fatty acids and aldehydes profiles. *Acta Agric. Slov.* 98, 15–19. doi:10.2478/v10014-011-0009-5

ANEXOS

Anexo 1 – Teor em lipídios e composição em AG de 100 g de carne proveniente dos borregos alimentados com as dietas utilizadas no 1º e no 2º ensaio.

| Unidade | | Dietas do 1º Ensaio | | | | | Dietas do 2º Ensaio | | | | |
|-------------------|----------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|---------------------|------|------|--|--|
| | | MSMD | MSHD | HSMD | HSMD | C | B | V | BV | | |
| Total de lipídios | g/100 g | 2,55 ^b | 2,82 ^a | 2,58 ^b | 3,04 ^a | 2,26 | 2,42 | 2,80 | 2,52 | | |
| SFA | mg/100 g | 871 ^a | 726 ^a | 645 ^b | 580 ^b | 498 | 592 | 655 | 608 | | |
| AG <i>trans</i> | mg/100 g | 240 | 174 | 203 | 205 | 227 | 285 | 283 | 248 | | |
| MUFA | mg/100 g | 1035 [†] | 848 [†] | 800 | 684 | 558 | 732 | 729 | 701 | | |
| PUFA | mg/100 g | 324 | 281 | 282 | 258 | 226 | 264 | 278 | 275 | | |
| n-3 PUFA | mg/100 g | 98,2 [†] | 80,1 [†] | 74,3 | 70,6 | 70,2 | 85,5 | 97,6 | 90,7 | | |
| 18:3n-3 | mg/100 g | 41,4 ^a | 33,0 ^a | 30,6 ^b | 28,4 ^b | 28,0 | 33,2 | 35,0 | 34,6 | | |
| EPA+DHA | mg/100 g | 11,9 ^a | 12,7 ^a | 10,9 ^b | 10,6 ^b | 7,7 | 8,0 | 8,9 | 9,6 | | |
| n-6 PUFA | mg/100 g | 210 | 188 | 192 | 177 | 146 | 165 | 167 | 173 | | |
| Unidade | | MSMD | MSHD | HSMD | HSMD | C | B | V | BV | | |
| t10-18:1 | mg/100 g | 133 | 85,6 | 122 | 134 | 159 | 206 | 172 | 154 | | |
| t11-18:1 | mg/100 g | 17,0 [†] | 15,6 [†] | 10,3 | 10,4 | 14,5 | 8,3 | 26,1 | 19,9 | | |
| c9,t11-18:2 | mg/100 g | 7,1 [†] | 7,3 [†] | 4,7 | 4,8 | 3,6 | 3,2 | 4,1 | 3,0 | | |
| CLA+19% t11-18:1 | mg/100 g | 10,3 [†] | 10,3 [†] | 6,6 | 6,7 | 6,3 | 4,8 | 9,6 | 6,8 | | |
| EPA+DPA+DHA | mg/100 g | 23,7 | 25,2 | 23,7 | 20,2 | 15,1 | 16,7 | 17,3 | 18,8 | | |

† – tendência para valores mais altos ($P<0,10$); índices diferentes na mesma linha em cada ensaio representam diferenças significativas ($P<0,05$).